



Faculteit Wetenschappen

Laboratorium voor Analytische Scheikunde
Instituut voor Nucleaire Wetenschappen

Organotinspeciatie in milieumonsters door middel van GC- ICP- MS

Jordy Vercauteren

Proefschrift voorgelegd tot het behalen van de graad van
doctor in de wetenschappen: scheikunde

September 2002

Promotor: prof. dr. L. Moens
Co-promotor: prof. dr. F. Vanhaecke

We're all in the gutter, but some of us are looking at the stars...
(Oscar Wilde)

Dankwoord

"Ik word ongetwijfeld de meest gelezen zin in dit proefschrift..."

Tja, een doctoraatsthesis schrijf je niet op 1-2-3 ... dus zou ik het ook niet echt gepast vinden om dat met het dankwoord ervan wel te doen. Niet dat het even belangrijk is als een diplomatieke missie voor de VN, maar onderschatten moet je het toch ook niet (zoals de eerste zin hierboven aangeeft) ... Anyway, hier komt ie:

Zoals de traditie het wil zijn de eerste woorden van dank gericht aan de professoren die het nauwst betrokken waren bij mijn onderzoek: diensthoofd prof. R. Dams (die ik verder nog veel succes met zijn 'Gantoise' wens), mijn promotor prof. L. Moens (die ik binnen afzienbare tijd wel rector zie worden), mijn co-promotor prof. F. Vanhaecke (die ik wel eens voor een vol auditorium zou willen zien staan met een T-shirt van zijn favoriete groep AC/DC), prof. P. Sandra (die ik nog veel sterkte wens met zijn toekomstige schoondochter) en prof. K. Strijckmans (waarvan ik geleerd heb dat de statistiek, eens je hem wat kent, vaker een bondgenoot dan een vijand is ... ook bedankt voor het structureren van alles wat met de practica te maken heeft).

Vanzelfsprekend verdienen de mensen die de afgelopen jaren dag in dag uit van dichtbij met mij werden opgescheept hier een ereplaats: Stijn (de best drummer die het INW ooit gekend heeft), Maité (mi hermana grande, gracias por todo), "de" Gunther (de rots in de branding ... VDB rules mate !!! ...and so do you), mijn metal-maatje Veerle (She rules until the end of time She goes her own way ... Hello to eternity and live for every breath ... Woo-o-o-oo woo-o-o-oo), Emmy (M-y ... bedankt voor de koekjes ... en het goede humeur). Enfin, of ze het nu weten of niet, ik stel ze allemaal heel erg op prijs.

Naast deze bureaugenoten kon ik me de afgelopen jaren ook niet voorstellen zonder ... Marieke (die me soms zo goed kent dat ik er zelf bang van word ... bedankt voor alles), Koen (niet alleen de man waar elke vrouw van droomt, maar ook een fantastische collega), Marijn (die het nog ver gaat brengen ... tenzij de Maoïsten hem zouden te pakken krijgen), Dimitri (een veel betere muzikant dan ikzelf), Jan (het bewijs dat spieren en hersenen wel degelijk samen kunnen), Cyrille (het bewijs dat teveel hersenen toch ten koste van de spieren gaat), mijn jaargenote Ilse (altijd klaar om brandjes te blussen (inside-joke) ... hoewel soms ook om er nog wat olie op te gooien), Lieve (de nieuwe feestpreases van het INW ... goe bezig !!!), Samuel (Mmdemmenij... of zoiets), kabouters Plop & Kwebbel (euh... prof. Frans De Corte & dr. Rita Cornelis, bedankt voor de goede raad op de juiste momenten ... en Rita, bedankt voor 'de kans'), Peter, Didier, Isabel, Syed, ... Ook nog een extra thanx voor de mensen die dagelijks instonden voor het transport naar de resto !!!

Er gaat natuurlijk ook een welgemeende dankuwel naar de permanente INWers. In de eerste plaats naar "mister RVT" (RogerKE voor de vrouwen). Deze man verdient eigenlijk een dankwoord voor hem alleen. Ik ken bitter weinig mensen die zowel op arbeidsvlak als

op menselijk vlak zo hoog scoren als deze "bricoleur". Wat weinigen weten is dat hij daarnaast ook een zeer goed acteur is, maar daar ga ik het hier nu niet over hebben ... anders gaan de poppekes weer aan't dansen. Enfin, het was een waar genoegen om samen met hem aan de vele transferlijnen e.d. te mogen werken. Verder wil ik ook Laurel & Hardy (euh.. Marc & Roger) bedanken voor hun assistentie binnen en buiten den atelier, Maurice voor het 'professionele' glaswerk en de hulp in het practicum, Lucien voor 101 dingen, Chantal voor de dans op de BBQ, Jacques, Rudy, Tony, Louis, Geert, Jos, Jan C, Johan, ...

Enkele ex-INWers wil ik ook bedanken: Dominique (voor een uitstekende begeleiding tijdens mijn thesisjaar), Tom (voor de overdracht van zijn GC-ervaring), Steven (dankzij hem ben ik de Kili opgeraakt), Karin, Michèle, Sylvie, Yi (Lola, lolololo ... lola !!!), Martin, Eduardo, Gloria, Marta, Cristina, Angela, Johan, Ashley, Sönne (oef, toch ene goeien Duitser) ...

Wie ik ook moet vermelden zijn de thesisstudenten die ik de afgelopen jaren mocht begeleiden: Ann, Timon (thanx for "the force"), Amy, Christophe, Dimitri ... bedankt voor jullie werk (en de fun).

De mensen van het RWZI Dendermonde ben ik heel dankbaar voor hun hulp en toelating bij de bemonstering van de gistingsslangen.

Mijn ouders en mijn familie wil ik hier niet vergeten, zonder hen zou ik hier zelf niet rondlopen ... ik weet dat ze trots op me zijn (soms zelfs te) ... en ik apprecieer het wel. Mijn recent overleden meter wil ik speciaal bedanken voor al de goede raad die ze me haar leven lang gegeven heeft.

Verder nog zeker het vermelden waard:

... de niet te evenaren stropstraat-bende: Sofie, Gwen, Maya en Kris

... las chicas : Pili, Rosa, Belén, Lourdes y Ryan

... op S12 : Brigitte, Jan (Wina is een XXXXclub !!!), Krista, Ine, Karen, ...

... op S4 : Marc, Christophe, ...

... de vele studenten waaraan ik practicum gegeven heb.

Ik zou ook alle mosselen willen bedanken die (weliswaar onder lichte dwang) hun leven gegeven hebben voor de wetenschap ...

Mocht ik nog iemand vergeten zijn, sorry ... gelieve uw naam hier in te vullen: _____

Jordy

Inhoud

Every man dies ... Not every man really lives. (Braveheart)

Inhoud.....	i
-------------	---

Inleiding.....	1
-----------------------	----------

Hoofdstuk 1: Organotinverbindingen

1.1 Inleiding	5
1.2 Organotinverbindingen	7
1.2.1 Het element Sn.....	7
1.2.2 Overzicht van organotinverbindingen	9
1.2.3 Toepassing en werking.....	10
1.2.3.1 Monoorganotinverbindingen	10
1.2.3.2 Diorganotinverbindingen.....	12
1.2.3.3 Triorganotinverbindingen.....	13
1.2.3.4 Tetraorganotinverbindingen.....	16
1.2.4 Toxiciteit	16
1.2.4.1 Inleiding	16
1.2.4.2 Acute toxiciteit	17
1.2.4.3 Chronische toxiciteit	19
1.2.4.4 Richtwaarden.....	21
1.2.5 Aanwezigheid in het milieu	25
1.2.6 Organotinverbindingen in de actualiteit	38
1.2.7 Wetgeving.....	41
1.2.8 Speciatie van organotinverbindingen.....	45
1.2.8.1 Inleiding en definitie.....	45
1.2.8.2 Overzicht van gebruikte technieken.....	46
1.3 Referenties hoofdstuk 1	50

Hoofdstuk 2: ICP-MS

1.1 Inleiding	59
1.2 ICP-MS: algemeen.....	60
1.2.1 Historiek.....	60

1.2.2 Standaardconfiguratie	60
1.2.3 Massaspectrometers	62
1.2.3.1 Quadrapoolfilter	62
1.2.3.2 Time-of-flight analyzer	63
1.2.4 Optimalisatie	66
1.2.5 Interferenties	68
1.2.5.1 Oorzaak en gevolg	68
1.2.5.2 Omgaan met interferenties	73
1.3 Perkin Elmer SCIEX Elan 5000	75
1.3.1 Inleiding	75
1.3.2 Typische kenmerken	76
1.3.3 Instrumentele instellingen	78
1.4 Hewlett Packard HP4500	79
1.4.1 Inleiding	79
1.4.2 Opbouw	79
1.4.2.1 Plasma	79
1.4.2.2 Interface	81
1.4.2.3 Lenzen	81
1.4.2.4 Quadrapoolfilter	83
1.4.2.5 Detector	84
1.4.2.6 Software	86
1.4.3 Tuning	88
1.4.4 Instrumentele instellingen	89
1.5 Referenties hoofdstuk 2	90

Hoofdstuk 3: Gaschromatografie

1.1 Inleiding	93
1.2 Theoretische aspecten	94
1.2.1 Historiek	94
1.2.2 Principe	94
1.2.3 Belangrijke begrippen	95
1.2.4 Opbouw	100
1.2.4.1 Injectiesysteem	101

1.2.4.2 Kolom	103
1.2.4.3 Oven.....	105
1.2.4.4 Detector.....	106
1.2.5 Perkin Elmer Autosystem GC.....	107
1.2.6 Hewlett Packard 5890 series II.....	107
1.3 Optimalisatie	108
1.3.1 Ovenprogramma.....	108
1.3.2 Stationaire fase.....	110
1.3.3 Draaggas	112
1.4 Referenties hoofdstuk 3	113

Hoofdstuk 4: Transferlijn

1.1 Inleiding	117
1.1.1 Bandverbreding bij GC-ICP-MS.....	118
1.2 Koppelingen	119
1.2.1 Historiek.....	119
1.2.2 Oude transferlijn	120
1.2.3 Nieuwe transferlijn	122
1.2.3.1 Algemeen	122
1.2.3.2 Koppeling met Elan 5000 en HP 4500.....	124
1.2.3.3 Opwarming en temperatuurstabiliteit	126
1.2.3.4 Achtergrondsignaal.....	128
1.2.4 Transferlijn Oviedo	134
1.2.5 Agilent Transferlijn.....	135
1.3 Referenties hoofdstuk 4	137

Hoofdstuk 5:

Multi-element speciatie met quadrapool ICP-MS

1.1 Inleiding	141
1.2 Theoretische beschouwingen.....	142
1.2.1 Transiënte signalen	142
1.2.2 Enkele veelgebruikte begrippen	143

1.2.3 Digitalisatiefouten	143
1.2.4 Telstatistiek.....	149
1.2.4.1 Poisson distributie	150
1.2.4.2 Gaussiaanse distributie of Normaal distributie	153
1.2.5 Instrumentele beperkingen van een quadropool massafilter	154
1.2.5.1 Sequentieel karakter.....	155
1.2.5.2 Duty cycle	161
1.2.6 Conclusie.....	163
1.3 Quadropool vs. time-of-flight	164
1.4 Alternatieven	166
1.4.1 Time programming	166
1.4.2 Aanpassen chromatografie.....	167
1.5 Referenties hoofdstuk 5	167

Hoofdstuk 6:

Solid Phase Microextraction (SPME)

1.1 Inleiding	171
1.2 Principe.....	172
1.2.1 Historiek.....	172
1.2.2 Thermodynamica.....	172
1.2.3 Kinetiek.....	175
1.3 Optimalisatie	178
1.3.1 Inleiding	178
1.3.2 Headspace vs. direct SPME	179
1.3.3 Extractietijd	181
1.3.4 Extractietemperatuur	185
1.3.5 Headspace volume.....	188
1.3.6 Fibercoating.....	191
1.3.7 Stirring	193
1.3.7.1 Stirring vs. statisch	193
1.3.7.2 Adsorptie aan roervlo ?	194
1.3.8 Desorptie	197

1.3.9 Signaalonderdrukking	198
1.4 Figures of merit	200
1.4.1 Gevoeligheid	200
1.4.2 Detectielimiet	201
1.4.2.1 Instrumentele LOD	201
1.4.2.2 Procedure LOD	202
1.4.3 Herhaalbaarheid	203
1.4.4 Lineair dynamisch bereik	204
1.4.5 Recovery	207
1.5 Toepassing	211
1.5.1 Inwendige standaardisatie	211
1.5.2 Waterige monsters	212
1.5.3 Vaste monsters	215
1.6 Referenties hoofdstuk 6	215

Hoofdstuk 7:

Monstervoorbereiding

1.1 Inleiding	219
1.2 Praktische aspecten	220
1.2.1 Aanmaak van standaardoplossingen	220
1.2.2 Reinigingsprocedure	221
1.3 Derivatisatie met NaBEt₄	222
1.3.1 Historiek	222
1.3.2 pH	224
1.3.3 Het reagens	228
1.3.4 Derivatisatieopbrengst	231
1.4 Digestie	233
1.4.1 Overzicht	234
1.4.2 Voorbehandeling	235
1.4.3 Digestie met KOH/EtOH	236
1.4.3.1 Procedure	236
1.4.3.2 Toepassing	237

1.4.4 Digestie met NaBEt ₄	239
1.4.4.1 Procedure en validatie	240
1.4.4.2 Toepassing	243
1.4.5 Invloed van de monstermassa	244
1.5 Conclusies	250
1.6 Referenties hoofdstuk 7	252

Hoofdstuk 8:

Stir Bar and Headspace Sorptive Extraction (SBSE & HSSE)

1.1 Inleiding	257
1.2 Instrumentatie	258
1.2.1 Stir bars	258
1.2.2 Sorption sticks	259
1.2.3 Thermische desorptie (TDS) + koude trap (CIS)	259
1.2.3.1 Algemeen	259
1.2.3.2 Temperatuurverloop	261
1.2.3.3 Split / splitless modes	262
1.2.3.4 Overzicht	263
1.2.4 Losstaande conditioner	264
1.3 Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)	265
1.3.1 Historiek	265
1.3.2 SBSE vs. SPME	266
1.3.3 Instrumentele en analytische parameters	268
1.3.4 'Figures of merit'	271
1.3.4.1 Detectielimiet	271
1.3.4.2 Herhaalbaarheid	272
1.3.4.3 Lineair dynamisch bereik	273
1.3.5 Analyse van CRM 477	275
1.3.6 Toepassing	276
1.3.6.1 Voorbeschouwing: kwantitatief vs. kwalitatief	276
1.3.6.2 Oppervlaktewater	277

1.3.6.3 Verse mosselen.....	279
1.4 HeadSpace Sorptive Extraction (HSSE).....	281
1.4.1 Historiek.....	281
1.4.2 Toepasbaarheid voor organometaalspeciatie.....	281
1.4.2.1 Kleine gesloten systemen.....	282
1.4.2.2 Open systemen	283
1.4.3 Kwalitatieve kalibratie en unidentified flying organometallics (UFO's)	285
1.4.3.1 Probleemstelling	285
1.4.3.2 Kalibratiecurve.....	286
1.4.4 Bemonstering	289
1.4.5 Resultaten	291
1.4.5.1 Sn	291
1.4.5.2 Pb	295
1.4.5.3 Hg.....	298
1.4.5.4 As	300
1.4.5.5 Bi	301
1.4.5.6 Sb	302
1.4.5.7 Conclusies	304
1.4.6 Robuustheid van de coating	304
1.4.7 Desorptie in conventionele liner.....	305
1.5 Conclusie.....	307
1.6 Referenties hoofdstuk 8	308

Hoofdstuk 9:

Samenvatting & Summary

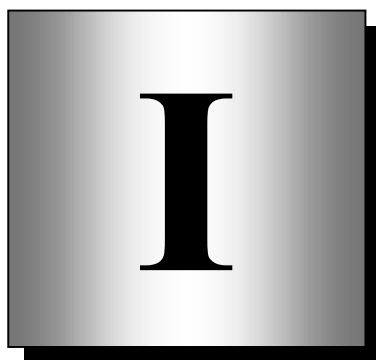
Samenvatting	313
Summary	319

Inleiding

De laatste jaren is de belangstelling voor de organotinproblematiek, mede dankzij ophef in de media, aanzienlijk toegenomen. Omdat bepaalde organotinverbindingen het ecologisch evenwicht al bij zeer lage concentraties kunnen verstoren, is het van essentieel belang om over technieken te beschikken die bepaling op deze niveaus mogelijk maken. Het lopende onderzoek betreffende de bepaling van organotinverbindingen met behulp van SPME, GC en ICP-MS werd in dit proefschrift verder uitgediept en verbreed.

In het begin van het proefschrift wordt een literatuurstudie gegeven die de belangrijkste aspecten van organotinverbindingen behandelt. Daarna wordt alle aandacht gericht op de bepaling van organotinverbindingen in het milieu. Hoewel een analyse begint bij de monstervoorbereiding en eindigt met de detectie worden de verschillende stappen in dit proefschrift in omgekeerde volgorde behandeld. Dit lijkt in eerste instantie vreemd, maar is het eigenlijk niet. Het heeft namelijk geen zin om bijvoorbeeld de extractie te optimaliseren alvorens men de detectie kan uitvoeren. Daarom komen achtereenvolgens detectie, scheiding, koppeling, extractie en monstervoorbereiding aan bod. Op het einde van het proefschrift worden de eerste stappen gezet bij het gebruik van twee nieuwe, zeer gevoelige extractietechnieken voor de bepaling van organotin- en andere organometaalverbindingen.

Hoofdstuk



ORGANOTIN- VERBINDINGEN

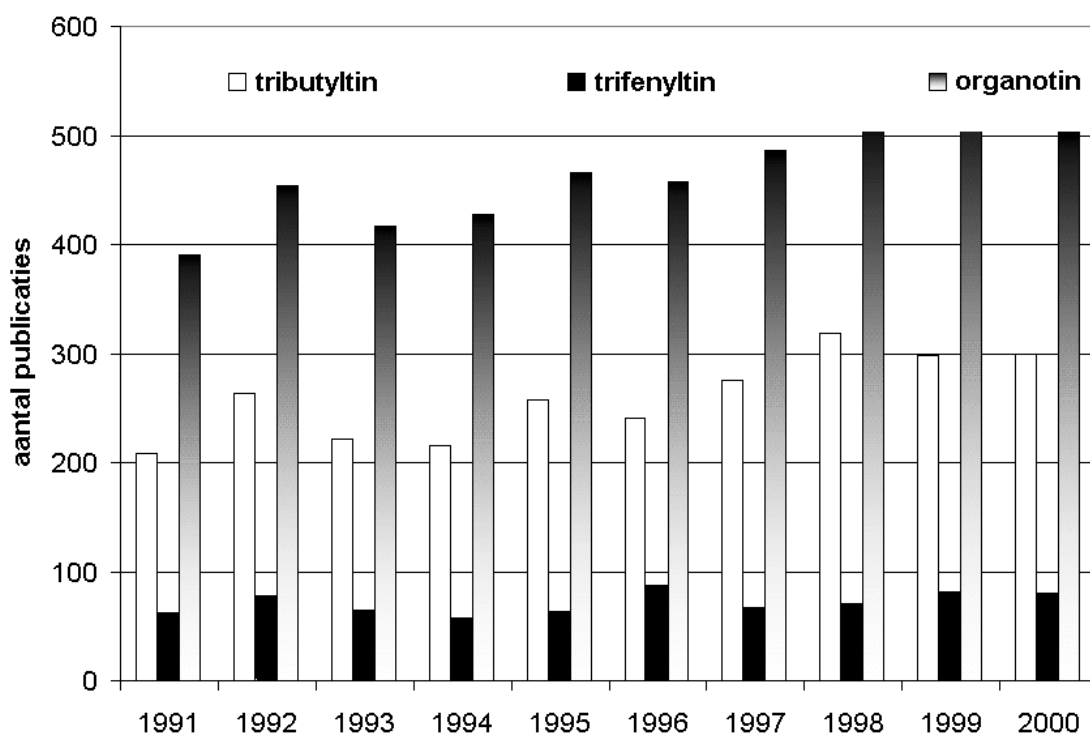
We do not inherit the earth from our ancestors, we borrow it from our children...
(indiaans gezegde)

1.1 Inleiding

In dit hoofdstuk zullen de verschillende aspecten van organotinverbindingen behandeld worden. Organotinverbindingen vormen een van de belangrijkste soorten organometalen. Zoals de naam al laat vermoeden, bevinden deze verbindingen zich op de grens van de organische en de anorganische chemie. De meest typische organometalen zijn vrijwel allemaal op identieke manier opgebouwd: ze bevatten op zijn minst één metaalatoom gebonden aan één of meerdere koolstofatomen die toebehoren aan organische groepen. Hierdoor kunnen ze qua eigenschappen en gedrag deels beschouwd worden als organische verbindingen (ze beschikken echter ook over een metallisch karakter). Hun organisch karakter verklaart waarom de meeste organometalen beduidend meer toxisch zijn dan de respectievelijke vrije metaalionen. De aanwezigheid van het metaalatoom laat echter toe om, door specifieke detectie van dit atoom, organometalen op relatief eenvoudige manier te detecteren. Mits de koppeling van een geschikt chromatografisch systeem met een gevoelige 'metaaldetector' kunnen vaak zeer lage concentraties bepaald worden (voor sommige technieken zelfs beneden het ppt-niveau).

In verschillende toepassingen worden organometalen gebruikt omwille van hun toxiciteit (b.v. als fungicide), maar het gevaar van deze verbindingen schuilt niet enkel hierin. Het besef dat diverse toxische organometalen vandaag de dag in de meest uiteenlopende omgevingen zijn terecht gekomen (water, lucht, voedsel, kleding,...) heeft de interesse in dit soort verbindingen aanzienlijk doen toenemen. Omwille van hun uitgebreide waaier van toepassingen en de onzekerheid in verband met hun toxiciteit zijn het vooral de organotinverbindingen die de meeste aandacht opstrijken en de laatste maanden/jaren zijn ze dan ook niet meer uit de actualiteit weg te branden. Vanzelfsprekend weerspiegelt dit zich ook in de wetenschappelijke interesse in deze verbindingen. Zo leverde een recente zoekopdracht bij 'Web of Science' naar publicaties over organotinverbindingen meer dan 5000 hits. Alhoewel een deel hiervan betrekking heeft op hun gebruik in de organische chemie, behandelt het grootste deel de analyse en toxiciteit van dit soort verbindingen. Alleen al een volledige literatuurstudie van deze verbindingen zou dus meer dan één proefschrift

omvatten. De bedoeling van dit hoofdstuk is dus geenszins volledig te zijn, maar wel de meest relevante informatie te geven. Omwille van hun belang zal ook in dit hoofdstuk (en tevens in het volledige proefschrift) meest aandacht besteed worden aan de organotinverbindingen tri-n-butylytin en trifenylytin. In figuur 1.1 is een overzicht weergegeven van het aantal hits in 'Web of Science' betreffende organotinverbindingen, tributyltin en trifenylytin van 1991 tot en met 2000. Hieruit blijkt de gestage toename van de interesse gedurende de jaren '90.



Figuur 1.1: Overzicht van het aantal publicaties betreffende organotinverbindingen sinds 1991.

Naast enkele algemeenheden in verband met organotinverbindingen, zullen structuur, werking, toepassing, toxiciteit, aanwezigheid in het milieu, wetgeving en de meest recente vermeldingen in de actualiteit aan bod komen. Aan het einde van dit hoofdstuk zal een kort overzicht van speciatie-analyse van organotinverbindingen gegeven worden.

1.2 Organotinverbindingen

1.2.1 Het element Sn

De aardkroon bestaat voor 0,023% uit tin, dat hiermee het 51^e element is in rangorde van voorkomen. De belangrijkste tin-mineralen zijn cassiteriet (SnO_2) en stanniet ($\text{Cu}_2\text{FeSnS}_4$). Het metaal tin komt voor onder twee vormen, bij opwarmen gaat α -tin (grijs poeder) vanaf 13,2°C langzaam over in β -tin (wit metaal).

Enkele eigenschappen van tin zijn hierna weergegeven:

Atoomnummer: 50

Molaire massa: 118,71 g/mol

1^e ionisatiepotentiaal: 7,342 eV

Stabiele isotopen:

Sn

Smeltpunt: 232°C

Kookpunt: 2270°C

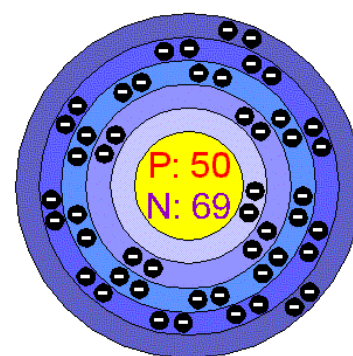
2^e ionisatiepotentiaal: 14,628 eV

Massa	112	114	115	116	117	118	119	120	122	124
Abundantie (%)	0,97	0,65	0,34	14,53	7,68	24,23	8,59	32,59	4,63	5,79

Elektronenconfiguratie in grondtoestand: $[\text{Kr}].4d^{10}.5s^2.5p^2$

Oxidatietoestanden: Sn(II), Sn(IV), Sn(V) en Sn(IV). (De laatste twee komen enkel voor als 'formele' oxidatietoestand).

De geschiedenis van tin gaat terug tot in de oudheid. In China en Japan (2000 v. Chr.), in de graven van de Farao's (600 v. Chr.) en in oude Incabouwwerken (Bolivië) zijn tinnen voorwerpen aangetroffen. Brons, een legering van koper en tin, was reeds eerder bekend. Zo zijn er in Zweden bronzen voorwerpen gevonden die dateren van ca. 5000 v. Chr.



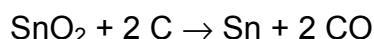
Figuur 1.2: Model van Bohr voor Sn (nuclide 119).

Zijn naam heeft het te danken aan het oud-Duitse “zin” of het Noorse “tin”, wat staafje betekent. Berzelius heeft het symbool Sn, afgeleid van het verlatiniseerde stannum, voorgesteld. Tin is ook een van de zeven metalen van de alchemie (zie figuur 1.3), alhoewel men er ondertussen wel al achter gekomen is dat het niet zo eenvoudig om te zetten is in goud...



Figuur 1.3: Symbolen voor het metaal tin in de alchemie.

De wereldproductie van tin bedraagt ongeveer 230.000 ton per jaar, waarbij hergebruik een belangrijke bron van het materiaal is. De productie van metallisch tin steunt al eeuwen op volgende reactie:



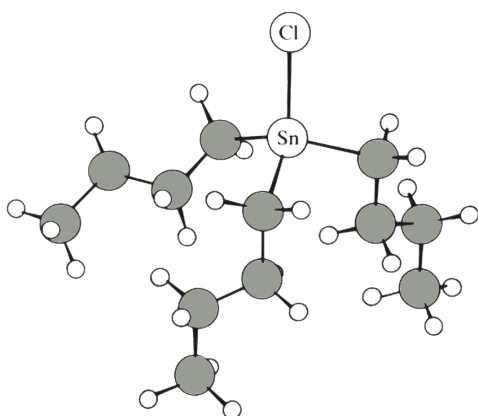
De bekendste toepassing van tin is zonder twijfel blik (= gewalst staal dat elektrolytisch gecoat werd met tin). Verder wordt tin gebruikt in tal van legeringen:

- soldeer: een laagsmeltend mengsel van metalen, bijvoorbeeld tin (van 2 tot 63%) met lood
- munten: de munten van 50, 20 en 10 eurocent zijn gemaakt van een legering met 1% tin)
- siervoorwerpen: meestal gemaakt van Brittannia-metaal, een legering van tin (70 - 94%) met antimoon (5 - 24%) en koper (tot 5%); soms wordt ook lood (tot 9%) toegevoegd. Vroeger werden veel gebruiksvoorwerpen van zuiver tin gemaakt. Deze voorwerpen werden echter gemakkelijk aangetast door de tinpest, die wordt veroorzaakt doordat bij temperaturen lager dan ca. 13°C de stabiele witte vorm overgaat in de instabiele grijze vorm met een poederachtige structuur.
- brons: een legering van koper en tin (tot 30%). Deze legering is hard en slijtvast en daardoor zeer geschikt voor bijvoorbeeld kranen, medailles en munten, standbeelden en beeldjes.

Naast de toepassingen van tin als metaal en als organotinverbinding (zie 1.2.3), wordt tin ook veelvuldig gebruikt als SnO_2 (glasindustrie, zonnecellen, halfgeleider,...), als SnCl_2 (verfbereiding), als SnF_2 (tandpasta), enz. [website Fedichem], [website Mark Winter], [CRC, 1991].

1.2.2 Overzicht van organotinverbindingen

Op enkele minder courante verbindingen na zijn bijna alle organotinverbindingen opgebouwd uit een centraal Sn-atoom met sp^3 -hybridisatie, covalent gebonden aan vier groepen die zowel organisch als anorganisch van aard kunnen zijn. Naargelang er één, twee, drie of vier metaal-koolstof bindingen aanwezig zijn spreekt men van mono-, di-, tri- of tetraorganotinverbindingen. De vaakst voorkomende organische groepen in deze soort verbindingen zijn (meestal onvertakte) alifatische ketens met vaak één (methyltins), vier (butyltins) of acht (octyltins) koolstoffen. Daarnaast zijn ook aromatische groepen vaak voorkomende substituenten (fenyltins). Vanzelfsprekend bestaan er ook tal van andere mogelijkheden en kunnen er in combinatie met tientallen anorganische groepen een zeer groot aantal verschillende verbindingen samengesteld worden met elk hun typische eigenschappen en toepassingsgebieden. De anorganische groepen zijn meestal halogenen, acetaten of hydroxy-groepen.



Figuur 1.4: Schematische voorstelling van tri-n-butyltin chloride (TBT).

De bekendste organotinverbinding is zonder twijfel de triorganotinverbinding *tri-n-butyltin* (figuur 1.4) die het meest bekend en berucht is omwille van het gebruik als aangroeiwerende (Eng. 'anti-fouling') verf op schepen, boorplatformen e.d. Omdat verwarring onwaarschijnlijk is, zal in het verdere verloop van dit proefschrift steeds over 'tributyltin' gesproken worden, afgekort als 'TBT' (en niet als 'TBT' zoals vaak de gewoonte is). Ook *trifenyln* is een vrij

belangrijke organotinverbinding die nog heel frequent wordt gebruikt in de landbouw als fungicide, voornamelijk tegen de aardappelziekte, maar ook zijn toepassing vindt in aangroeiwerende verven. Trifenyyltin zal afgekort worden als TPhT (en niet als TPT, om verwarring met tripropyltin te vermijden). Omdat de anorganische groepen vaak van veel minder belang zijn, vergeleken met de organische groepen, worden deze zelden vermeld in de benaming van de organotinverbindingen. Alhoewel wetenschappelijk niet 100% correct, zal deze vereenvoudiging ook in dit proefwerk gehanteerd worden wanneer verwarring uitgesloten is.

Noot: Omwille van de bekendheid van TBuT overschaduwde de informatie over deze verbinding vaak die van alle andere organotinverbindingen. Veel onderzoek spitst zich toe op TBuT en op verschillende vlakken (b.v. toxiciteit) vormt de informatie over de andere organotinverbindingen slechts een fractie van die over TBuT. Alhoewel TPhT eigenlijk de verbinding was waaraan tijdens het volledige proefwerk het meest aandacht werd besteed, zal er in dit hoofdstuk, omwille van de grote discrepantie in beschikbare informatie, ook relatief veel aandacht besteed worden aan TBuT.

1.2.3 Toepassing en werking

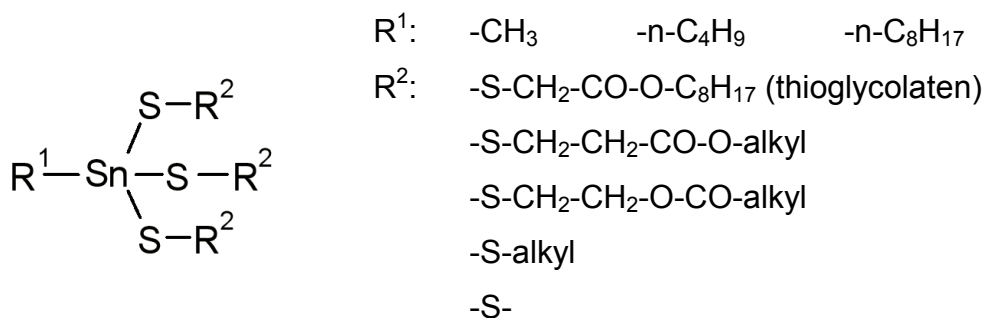
Er is geen enkel type van organometaalverbinding dat zoveel toepassingen kent als de organotinverbinding. In dit deel zullen daarom ook enkel de belangrijkste toepassingen behandeld worden. De bespreking hiervan kan gebeuren op basis van het type substituent (methyltins, butyltins,...) of op basis van de substitutiegraad. In dit werk werd voor de laatste optie gekozen, waarbij er vooral voor TPhT en ook voor TBuT extra aandacht zal besteed worden aan de werking en aan enkele recente toepassingen zoals het gebruik in 'slow release' formules.

1.2.3.1 Monoorganotinverbindingen

Deze verbindingen vinden vooral hun toepassing als stabilisator in de PVC-industrie en als precursor voor de vorming van SnO_2 -lagen in de glasindustrie.

Bij het gebruik als stabilisator worden methyltin, butyltin, octyltin of dodecyltin fysisch ingebouwd in het polymeer. PVC (polyvinylchloride) is een materiaal dat intrinsiek

niet stabiel is en waarbij er dus, zelfs in geval van perfecte productie, steeds stabilisatoren moeten gebruikt worden. De degradatie van PVC is een vrij complex proces, waarbij HCl een vrij belangrijke katalytische rol speelt. De primaire functie van het organotin bestaat er in te reageren met het HCl. De organotinverbinding reageert hierbij dus als base. De sterkte van deze base is cruciaal want er mag enkel reactie optreden met het vrije HCl en geen HCl uit het polymeer zelf onttrokken worden. Slechts enkele basen (waaronder dus bepaalde organotinverbindingen) bezitten de juiste balans qua reactiviteit om aan dit criterium te voldoen. De volledige werking is echter nog complexer dan dit en valt buiten het kader van dit proefwerk. Naast de alkylgroep spelen de andere groepen op het centrale tin-atoom vaak een zeer belangrijke rol in het stabilisatieproces. Zo behoren de zwavelbevattende organotinverbindingen (figuur 1.5) tot de meest efficiënte en meest gebruikte stabilisatoren ter wereld. Binnen deze groep zijn de thioglycolaten veruit de belangrijkste. De taak van deze zwavelgroepen bestaat er onder andere in te reageren met onstabiele chloorsites op het polymeer. Hun populariteit als stabilisatoren hebben deze organotinverbindingen ook voor een groot stuk te danken aan het feit dat de afgewerkte producten kristalhelder zijn, waardoor er geen toepassingsmogelijkheden (folie, flessen,...) verloren gaan [website Hanser].

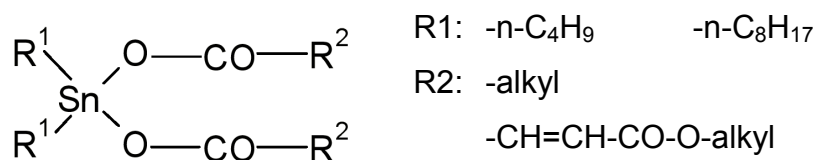


Figuur 1.5: Structuur van de belangrijkste zwavelbevattende organotinverbindingen.

Methyltin trichloride en butyltin trichloride worden ook gebruikt als alternatieven voor SnCl₄ bij het coaten van glas met een dunne laag SnO₂ (10 tot 1000 nm). Bij dit proces wordt organotindamp in contact gebracht met het hete glasoppervlak waarbij afbraak en oxidatie tot SnO₂ plaatsvindt. Hierdoor wordt het glas krasbestendig, glanzend of geleidend, afhankelijk van de dikte van de SnO₂-film [Craig, 1986].

1.2.3.2 Diorganotinverbindingen

Net als de monoörganotinverbindingen worden diorganotinverbindingen vooral gebruikt als stabilisatoren in de PVC-industrie. In stabiliserende werking is er geen fundamenteel verschil met de voorgaande groep. Diorganotinverbindingen worden ook vaak gebruikt in combinatie met de eerste groep, waarbij er blijkbaar een synergetisch effect optreedt. De belangrijkste zijn ook hier de zwavelbevattende diorganotinverbindingen, die qua structuur enkel verschillen van de zwavelbevattende monoörganotinverbindingen door de aanwezigheid van twee zwavelbevattende groepen (i.p.v. drie) en twee alkylgroepen (i.p.v. één). Een andere, frequent gebruikte groep, wordt gevormd door de organotin carboxylaten, waarvan de structuur is weergegeven in figuur 1.6. De relatieve hoeveelheden van organotinverbindingen die in PVC worden gebruikt, bevinden zich in de orde van promilles [website Solvin PVC]. Het is dan ook niet verwonderlijk dat het gebruik als stabilisator meer dan de helft van het organotinverbruik vertegenwoordigt [website Hanser].



Figuur 1.6: Structuur van de belangrijkste diorganotin carboxylaten.

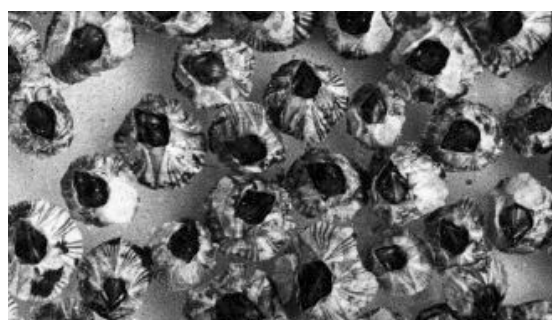
Naast hun toepassing als 'stabilisator' worden deze verbindingen ook vaak gebruikt als 'katalysator'. Vooral dibutyltin, in zijn verschillende vormen, is hierbij zeer populair. De belangrijkste toepassingen waarbij DBuT als katalysator wordt ingezet zijn: productie van urethaan coatings, polyurethaan schuimen, verestering en transesterificatie van esters en polyesters en de aanmaak van electrocoatings [website Ortepa] .

1.2.3.3 Triorganotinverbindingen

Deze verbindingen worden vooral gebruikt als biociden ('leven-doders'), meer bepaald als algiciden, fungiciden, acariciden (tegen mijten) en houtbeschermingsmiddelen. Daar waar het gebruik van tricyclohexyltin (TCT) vooral beperkt bleef tot mijtenbestrijding, werden en worden TBuT en TPhT (ook wel bekend als 'fentin') met verschillende doeleinden gebruikt.

• **TBuT**

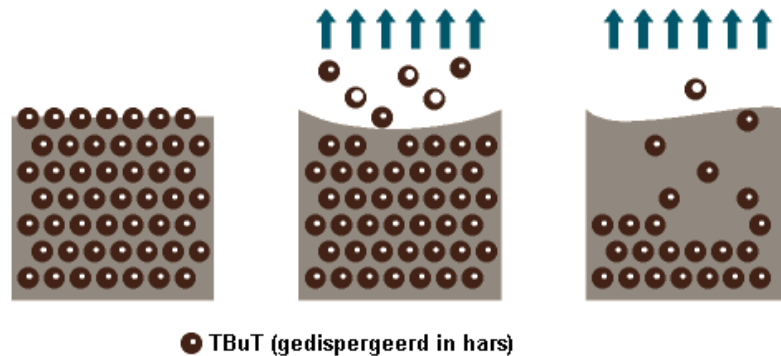
... is het meest bekend (en berucht) omwille van zijn gebruik in verven om de aangroei van allerlei organismen te weren. De meest gebruikte benaming voor deze verven is 'anti-fouling paints' (fouling = "bedekken van scheepsbodem met iets wat het varen belemmert"). Het belang van dit soort verven op grote vrachtschepen is zeer groot. De aanwezigheid van vooral



Figuur 1.7: Zeepokken vormen een van de grootste aangroei problemen op objecten onder het wateroppervlak.

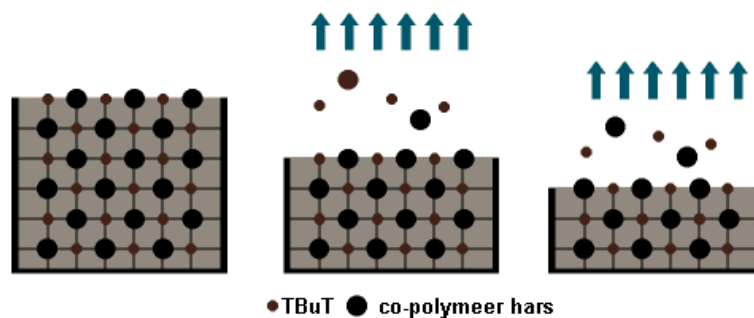
zeepokken (een diersoort die lijkt op schelpdieren, maar eigenlijk tot de kreeftachtigen behoort, zie figuur 1.7), maar ook algen, wieren, e.d. zorgt voor veel meer weerstand in het water (snelheidsreductie tot 5%). De toegenomen weerstand bij grote schepen brengt een groter brandstofverbruik (tot 40% meer) met zich mee. Rekening houdend met het feit dat grote vrachtschepen niet echt over de meest milieuvriendelijke motoren beschikken en diesel met een hoog zwavelgehalte gebruiken, gaat een verhoogd brandstofgebruik samen met veel meer uitstoot van onder andere CO_2 , SO_2 en NO_x . Wanneer dit soort verven niet meer gebruikt zouden worden, zouden deze schepen ook veel meer herschilderd moeten worden, waarbij dan weer meer vluchtige organische stoffen in het milieu zouden terecht komen. Naast het probleem van directe chemische milieuvervuiling is er ook de problematiek van het transporteren van vreemde organismen. De grote vrachtschepen, olietankers e.d. leggen duizenden kilometers af waarbij ze verschillende mariene biotopen aandoen. Het transporteren van bepaalde organismen (b.v. slakken) naar een vreemde biotoop kan onvoorspelbare gevolgen hebben en kan volledige

ecosystemen uit balans brengen. Ondanks deze ecologische motieven mag het wel duidelijk zijn dat vooral de financiële implicaties van het grotere brandstofverbruik de voornaamste drijfveer zijn voor het gebruik van dit soort verven [website Ortepa].



Figuur 1.8: Werkingsprincipe van een klassieke 'anti-fouling' verf.

Organotinbevattende scheepsverven kunnen tot 20% uit TBuT bestaan. Qua toepassingsprincipe bestaan er twee soorten verven. Bij de eerste (klassieke) aanpak worden de organotinverbindingen gewoon met de verf gemengd en treedt er na ingebruikname uitloging uit de verfmatrix op (zie figuur 1.8). Het nadeel van dit soort verven is dat de actieve bestanddelen op een korte termijn worden afgegeven en dat bij het herschilderen de oude verflaag, waaruit al het organotin is uitgeloogd, eerst dient verwijderd te worden.



Figuur 1.9: Werkingsprincipe van een 'slow-release' verf.

Bij een tweede, modernere, aanpak gebruikt men een 'slow-release' formulering. Hierbij wordt het organotin chemisch ingebouwd in een polymeer en komt het na chemische erosie van het polymeer door het zeewater (hydrolyse) geleidelijk vrij (zie figuur 1.9). Het voordeel van deze methode is dat het vrijkomen van de actieve bestanddelen veel beter kan gedoseerd worden waardoor er ook minder TBuT

gebruikt wordt en waardoor de schepen minder snel herschilderd dienen te worden. Daarenboven zorgt het erosieproces ook nog voor een gladdere scheepswand. Het vrijkomen van TBuT gebeurt, na een initiële overmaat, aan een constant tempo van ongeveer $4 \mu\text{g TBuT}/\text{cm}^2$ per dag [website Environment Australia].

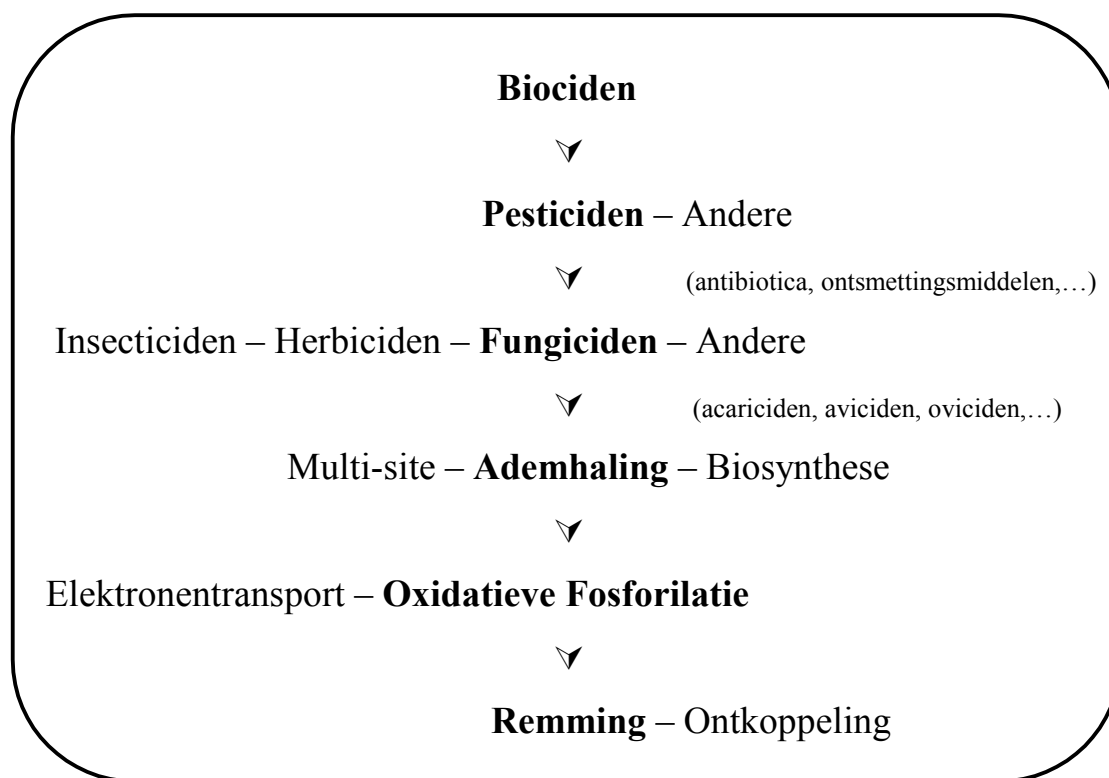
Naast het gebruik in scheepsverven wordt TBuT ook regelmatig toegepast als beschermingsmiddel op hout, textiel, enz.

- **TPhT**

... kent vooral zijn toepassing als fungicide, maar werd en wordt ook gebruikt in scheepsverven (maar wel in mindere mate dan TBuT). Het landbouwkundig gebruik van TPhT-hydroxide en -acetaat is bekend op aardappelen, bieten, selder, rijst, pecannoten, uien, appels, sojabonen, pindanoten, koffie,... De bestrijding van de aardappelziekte (*Phytophthora infestans*) is in onze streken de voornaamste toepassing, in de VS wordt fentin het meest gebruikt op pecannoten. TPhT wordt op kleinere schaal ook gebruikt voor zeer diverse andere toepassingen. Zo werd het in de Filipijnen gebruikt tegen bepaalde slakken in vijvers met melkvissen [Bagarinao,2000].

Uit een kleine rondvraag bij enkele Vlaamse landbouwers bleek al snel dat TPhT (onder een van zijn productnamen) alom bekend was en courant gebruikt werd. Bij het gebruik van pesticiden in de landbouw is er steeds het gevaar voor resistentie, daarom wordt er vaak gewisseld van pesticide en worden ook regelmatig mengsels (de zogenaamde 'cocktails') gebruikt, ook voor fentin is dit het geval. Vooral de acetaat-vorm wordt zeer vaak gecombineerd met maneb (mangaan ethyleen-bis-dithiocarbamaat), een fungicide met multi-site werking. De productnaam van het fungicide bestaat meestal uit een roepnaam (b.v. Brestan, Super-Tin, Stanex,...) die afhankelijk is van de fabrikant en kan variëren naargelang de verbinding en de combinatie met andere pesticiden. Naast de roepnaam is er meestal een aanduiding voor de formulering, vaak een spuitpoeder (WP) of een geconcentreerde suspensie (SC). Een laatste toevoeging is vaak een getal dat slaat op de concentratie van het actieve bestanddeel.

De biologische actie van fentin bestaat uit het verstoren van de ademhaling van de schimmel, dit gebeurt door inwerking op ATPase waardoor de oxidatieve fosforilatie (waarbij ADP terug wordt omgezet tot ATP) geremd wordt. De situering van fentin binnen de wereld van biociden is voorgesteld in figuur 1.10.



Figuur 1.10: Situering van TPhT binnen de wereld van de biociden.

1.2.3.4 Tetraorganotinverbindingen

Deze verbindingen kennen als dusdanig weinig toepassingen, maar zijn wel belangrijke intermediaren bij de synthese van de andere types organotinverbindingen.

1.2.4 Toxiciteit

1.2.4.1 Inleiding

Toxiciteit is een begrip dat met zekere voorzichtigheid dient benaderd te worden. Al te vaak worden bepaalde stoffen als toxisch bestempeld terwijl men in principe van

geen enkel product kan zeggen dat het 'op zich' toxisch is of niet. Toxiciteit kent verschillende vormen (acuut of chronisch), gradaties (van ongemak tot dood) en hangt af van verschillende factoren waarvan de belangrijkste het doelorganisme en de concentratie zijn.

Voor zover bekend bezit anorganisch tin geen toxische eigenschappen binnen het concentratiebereik waarin het in lucht, voedsel en drinkwater wordt teruggevonden. Aangezien sommige organotinverbindingen als pesticiden gebruikt worden, bestaat er echter geen twijfel over dat ze voor bepaalde organismen onder bepaalde omstandigheden toxisch zijn. De graad van toxiciteit staat vaak in verband met de polariteit van de verbinding en dus de mate waarin het een organisme kan binnendringen en zich eventueel accumuleren. Bij vele organotinverbindingen blijken vooral het aantal en de structuur van de organische groepen de mate van toxiciteit te bepalen. Voor de meeste organismen zijn monoorganotinverbindingen te polair om voor grote toxiciteitsproblemen te zorgen en zijn de tetraorganotinverbindingen te apolair en beschikken deze laatste dus over een te beperkte mobiliteit om levende wezens binnen te treden. Bij bepaalde bacteriën werd vastgesteld dat het toxisch effect afnam naarmate de substitutiegraad steeg [Lascourreges, 2000]. In het algemeen zijn het echter vooral di- en in nog grotere mate triorganotinverbindingen die voor de meeste problemen zorgen. Er moet echter onmiddellijk op gewezen worden dat er bij organotinverbindingen regelmatig reacties voorkomen waarbij substituenten kunnen uitgewisseld worden. Hierbij kunnen bijvoorbeeld tetraorganotinverbindingen omgezet worden in de veel gevaarlijkere triorganotinverbindingen. Alhoewel er over de mate en de omstandigheden waarin deze substitutiereacties voorkomen nog waar weinig bekend is, dient men het bestaan hiervan steeds in het achterhoofd te houden.

Zoals vrijwel altijd is er een belangrijk verschil tussen acute toxiciteit en de effecten van een langdurige blootstelling (chronische toxiciteit).

1.2.4.2 Acute toxiciteit

Onder acute toxiciteit verstaat men de nadelige effecten die een stof op korte termijn (vaak bij eenmalige blootstelling) kan teweegbrengen bij een bepaald organisme.

Meestal wordt het overlevingspercentage van een groep organismen als criterium gehanteerd. De dosis waarbij slechts 50% van de organismen overleven (LD_{50}), is ongetwijfeld het meest algemeen verspreide criterium voor acute toxiciteit.

In tabel 1.1 zijn enkele LD_{50} -waarden voor orale opname van verschillende organotinverbindingen vermeld. De eerder vermelde verschillen qua toxiciteit naargelang substitutiegraad, organische groepen en doelorganisme kunnen ook uit deze tabel afgeleid worden.

Alhoewel de acute toxiciteit van organotinverbindingen niet onderschat mag worden, zijn de concentraties in deze tabel relatief hoog vergeleken met de aanwezigheid van deze verbindingen in het milieu. Problemen met acute toxiciteit zullen zich dus vrijwel enkel voordoen in omgevingen waar deze producten gesynthetiseerd of gebruikt worden. Er is echter één relatief bekend geval van acute vergiftiging bij de mens. Op nieuwjaarsdag 1999 werd in Zuid-Oost China met organotinverbindingen gecontamineerd varkensvet per ongeluk (?) gebruikt als kook-olie. Hierbij werden meer dan duizend mensen blootgesteld aan hoge concentraties dimethyltin (ppm) en mono- en trimethyltin (ppb). Verschillende mensen overleefden de vergiftiging niet [Jiang, 2000].

Tabel 1.1: LD_{50} -waarden voor enkele organotinverbindingen.

Verbinding	Organisme	LD_{50} *
MBuTCl ₃	Muis	1400 µg/g
MBuTCl ₃	Rat	2140 µg/g
MOcTCl ₃	Muis	4600 µg/g
DBuTCl ₂	Muis	35 µg/g
DBuTCl ₂	Rat	150 µg/g
DOcTOAc ₂	Rat	2030 µg/g
TEtTOAc	Rat	4 µg/g
TBuTCl	Rat	129 µg/g
TPhTCl	Rat	135 µg/g
TPhTOH	Kavia	27 µg/g
TPhTOH	Rat	360 µg/g
TCTOH	Rat	540 µg/g
TeBuT	Rat	6000 µg/g
TeEtT	Konijn	9 µg/g
[website IPCS], *concentratie per lichaamsgewicht		

Naast toxicologische effecten op dieren blijken organotinverbindingen ook nadelige effecten te hebben op bepaalde bacteriën. In een recente studie werd er gerapporteerd over de acute toxiciteit van organotinverbindingen ten opzichte van actief slib (zoals gebruikt bij waterzuivering) [Stasinakis, 2001].

1.2.4.3 Chronische toxiciteit

Onder chronische toxiciteit verstaat men nadelige effecten die optreden na langdurige en/of herhaaldelijke blootstelling aan concentraties (ver) beneden de niveaus voor acute toxiciteit. Gezien de veel grotere tijdsperiode waarmee dit soort toxiciteit gepaard gaat, is het een veel complexer en moeilijker te bestuderen gegeven. Studies in verband met chronische toxiciteit hebben niet alleen te kampen met de vaak lange tijdsduur op zich, maar ook met storende en/of indirecte effecten (zo zou een stof die een doelorganisme ongemoeid laat, het voedsel van dit organisme kunnen doden waardoor het doelorganisme ook benadeeld wordt). In tegenstelling tot de acute toxiciteit is chronische toxiciteit ook veel moeilijker kwantitatief uit te drukken (aangezien het niet altijd om welgedefinieerde effecten gaat).



Figuur 1.11: Purperslak

Een waarde die men soms gebruikt is de N(O)EL: 'No Effects Level'. Het is net op dit vlak dat het gevaar van organotinverbindingen boven water komt. Uit diverse studies blijkt dat verschillende zeedieren bij concentraties rond het ppt-niveau al nadelige effecten ondervinden van bijvoorbeeld TBuT. Een van de meest gevoelige dieren blijkt de purperslak *Nucella lapillus* (Eng. 'dog-whelk') (figuur 1.11) te zijn, waarvan de vrouwtjes bij 1 ng/L al imposex (het optreden van mannelijke geslachtsorganen)

vertonen. Vanaf 5 ng/L kan dit zelfs leiden tot problemen met de ei-afzetting met de dood tot gevolg [Gibbs, 1987]. Op basis van deze gegevens is het niet verwonderlijk dat verschillende kolonies van deze slakken door TBuT met uitsterven bedreigd zijn (of reeds uitgestorven zijn). Er is ook gebleken dat het optreden van imposex irreversibel is bij bepaalde soorten waardoor blootstelling in een vroeg stadium van de ontwikkeling de organismen voor het leven tekent [Foale, 1993]. Ondertussen is

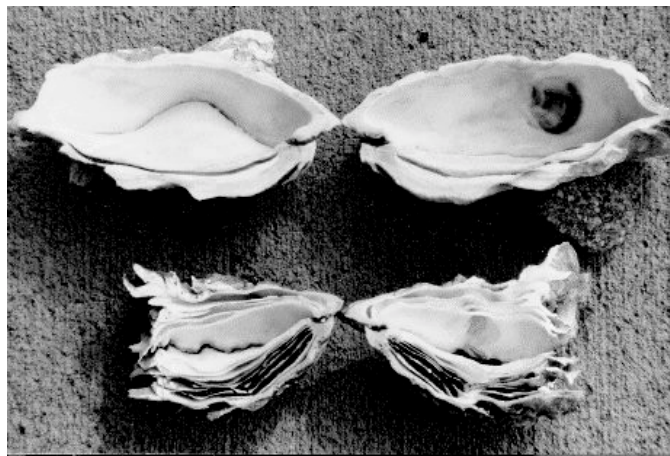
gebleken dat wereldwijd al bij 72 diersoorten imposex werd vastgesteld als gevolg van TBut. In tabel 1.2 zijn enkele van de vele meldingen van imposex van over heel de wereld opgesomd.

Tabel 1.2: Meldingen van imposex door organotinverbindingen van over de hele wereld.

Soort	Land	Referentie
Purperslak (<i>Nucella lapillus</i>)	Noorwegen	Folsvik, 1999
Slak (<i>Hinia incrassata</i>)	Frankrijk	Oehlmann, 1998
Gewone alikruik (<i>Littorina littorea</i>)	Duitsland	Bauer, 1997
Neogastropods (7 soorten)	Nieuw Zeeland	Stewart, 1992
Fuikhoren (<i>Hinia reticulata</i>)	Frankrijk	Stroben, 1992
Slakken (<i>Nucella</i> spp. / <i>L. littorea</i>)	VS	Evans, 2001
Gewone alikruik (<i>Littorina littorea</i>)	Nederland	De Wolf, 2001
Gewone alikruik (<i>Littorina littorea</i>) + Purperslak (<i>Nucella lapillus</i>)	Ierland	Minchin, 1997
Zeeslakken (<i>Stramonita haemastoma</i> en <i>Hexaplex trunculus</i>)	Israël	Rilov, 2000
Zeeslakken (38 soorten !)	Japan	Horiguchi, 1997
Purperslak (<i>Nucella lapillus</i>)	Ysland	Svavarsson, 2000
Mosselen (<i>Haliotis madaka</i>)	Japan	Horiguchi, 2000
Neogastropods	Australië	Wilson, 1993
Fuikhoren (<i>Hinia reticulata</i>)	Spanje	Barreiro, 2001
Grote Posthoornslak (<i>Planorbis corneus</i>)	?	Schulte-Oehlmann, 2000

Gezien het sterke effect op de hormonenhuishouding van deze organismen bestaat ook de vrees dat TBut (en andere organotinverbindingen) op termijn vergelijkbare effecten op de mens zou kunnen hebben (alhoewel dit uit nog geen enkele studie blijkt).

Andere zeedieren zoals oesters, mosselen,... blijken ook zeer gevoelig te zijn voor organotinverbindingen. Onder andere in Frankrijk en het Verenigd Koninkrijk worden regelmatig oesters met ernstige groeimisvorming waargenomen (zie figuur 1.12) [Dyrynda, 1992]. Ook vissen blijken beneden het $\mu\text{g/L}$ -niveau hinder te ondervinden van organotinverbindingen. Uit een onderzoek van Strmac [Strmac, 1999] bleekt dat zebravissen bij 500 ng/L al nadelige effecten ondervonden van TPhT. In dit onderzoek werden geen lagere concentraties gebruikt zodat het NEL mogelijk nog lager is.



Figuur 1.12: Normale oester (boven), en oester met kamervorming als gevolg van TBT-blootstelling (onder).

1.2.4.4 Richtwaarden

Wat betreft de kwaliteit van onze omgeving (water, lucht, bodem, voedsel) bestaan er tal van waarden waaraan verschillende functies worden toegekend. Alhoewel de naamgeving verschilt van land tot land kan men deze meestal opsplitsen in 'grenswaarden' en 'streefwaarden'. Vaak zijn de grenswaarden de, van uit een bepaald beleidsstandpunt, maximaal toelaatbare concentraties in een bepaald compartiment van het milieu. Meestal gaat het hier om waarden die onmiddellijk of op korte termijn zouden behaald moeten worden en waaraan ook wettelijk gevolgen verbonden zijn bij het overschrijden (men zou bijvoorbeeld kunnen beslissen om tot sanering over te gaan bij het overschrijden van de grenswaarde voor een bepaalde stof). Streefwaarden zijn vrijwel altijd (veel) strenger dan grenswaarden en zijn ook vaak berekend op basis van een principe van 'sustainability', vaak gebaseerd op het 'Verwaarloosbaar Risico' (VR). In geval van beperkte gegevens gebruikt men vaak

ook een welbepaalde fractie van de grenswaarde (b.v. 1%) als streefwaarde. Meestal zijn er geen directe wettelijke implicaties bij het overschrijden van deze waarden, maar worden ze wel als beleidsinstrumenten gebruikt. Anders bekeken, zou men kunnen stellen dat grenswaarden zich richten op acute problemen en streefwaarden eerder op chronische problemen.

Naast de aparte waarden per stof, moet men ook rekening houden met interacties van verschillende stoffen op bepaalde organismen. Voor stoffen met vergelijkbare werking kan men dan de som van de verhoudingen 'concentratie/grenswaarde' als indicatie gebruiken. Wanneer er geen synergetische effecten optreden zou deze som kleiner dan '1' moeten zijn. Indien deze effecten er wel zijn moet men een grenswaarde kleiner dan één in acht nemen.

Water

In onderstaande tabel 1.3 zijn de meest recente waarden voor tetrabutyl-, tributyl- en trifenyyltinverbindingen opgenomen zoals ze verschenen zijn in het jaar 2000 in de aanpassing van de 4^e Nota Waterhuishouding, het Nederlandse beleidsinstrument qua waterbeheer. In de tabel wordt onderscheid gemaakt tussen de MTR (Maximaal Toelaatbaar Risico, korte termijn, cfr. grenswaarde) en de streefwaarden (lange termijn) voor oppervlaktewater. Voor grondwater wordt enkel een streefwaarde vermeld, die blijkbaar bij gebrek aan informatie gelijk gesteld is aan de streefwaarde voor oppervlaktewater. Naast de concentratie in oplossing ('opgelost') kan ook een totale concentratie ('totaal') vooropgesteld worden, hierbij wordt de fractie gebonden aan vaste deeltjes ook in rekening gebracht. Daarenboven wordt ook een onderscheid gemaakt tussen zoet en zout water aangezien de gevoeligheid voor organotinverbindingen sterk verschilt tussen zoet- en zoutwaterorganismen.

Naast deze Nederlandse waarden zijn er ook richtwaarden voor TBuT van het EPA (Environmental Protection Agency) in de VS. In zout water geldt een richtlijn (vergelijkbaar met het Nederlandse MTR) waarbij het 'vierdaags gemiddelde' niet meer dan eens om de 3 jaar, 10 ng/L mag overschrijden. En het 'één-uur gemiddelde' niet meer dan eens om de 3 jaar, 370 ng/L mag overschrijden. Voor zoet water zijn de richtlijnen respectievelijk 63 ng/L en 460 ng/L [EPA, 1997].

Tabel 1.3: Nederlandse richt- en streefwaarden voor enkele organotinverbindingen in water.

	Oppervlaktewater			Grondwater
	MTR (opgelost) ng/L	MTR (totaal) ng/L	Streefwaarde ng/L	Streefwaarde ng/L
TeBuT (zoet)	1600	1600	16	16
TeBuT (zout)	17	17	0,2	
TBuT (zoet)	14	14	0,1	0,1
TBuT (zout)	1	1	0,01	
TPhT (zoet)	5	5	0,05	0,05
TPhT (zout)	0,8	0,9	0,009	

[Staatscourant, 2000]

In het Verenigd Koninkrijk geldt een EQS (Environmental Quality Standard) van 20 ng/L voor zoet en 2 ng/L voor zout water [website BASIC].

Bodem

Net als voor water zijn er in de aanpassing van de 4^e Nota Waterhuishouding MTR en streefwaarden opgenomen voor sedimenten, zie tabel 1.4.

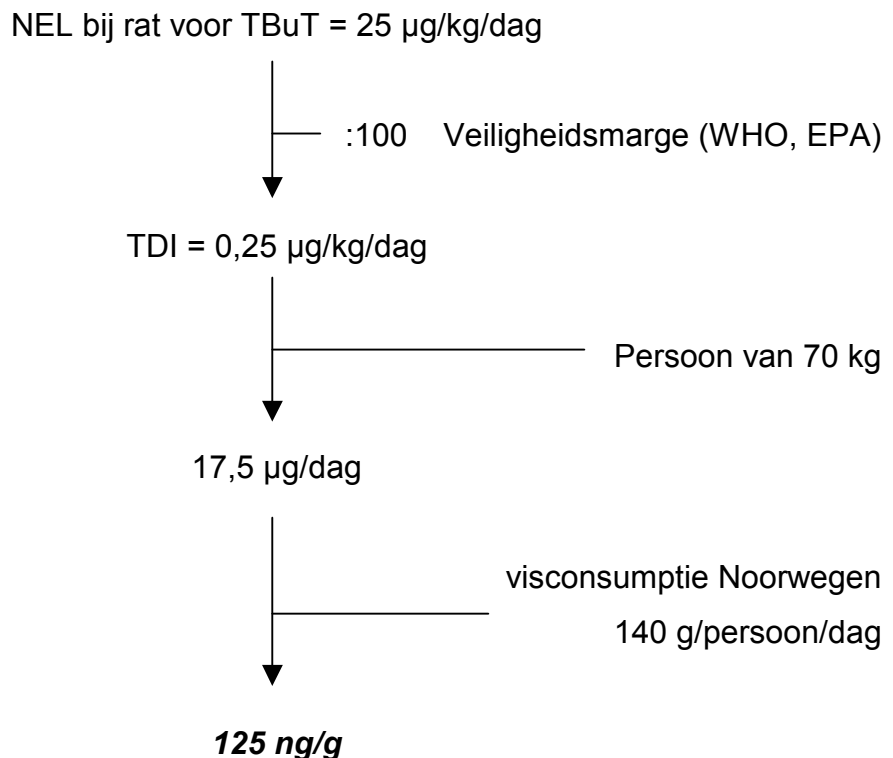
Tabel 1.4: Nederlandse richt- en streefwaarden voor organotinverbindingen in de bodem.

	MTR µg/kg droge stof	Streefwaarde ng/kg droge stof
TeBuT (zoet)	78	800
TeBuT (zout)	0,8	8
TBuT (zoet)	10	100
TBuT (zout)	0,7	7
TPhT (zoet)	6	60
TPhT (zout)	1	10

[Staatscourant, 2000]

Voedsel

Door de WHO (World Health Organization) en het EPA (Environmental Protection Agency) wordt, rekening houdend met een 100-voudige veiligheidsmarge, $0,25 \mu\text{g}$ TBoT (en $0,5 \mu\text{g}$ voor TPhT) per kg lichaamsgewicht per dag als aanvaardbare TDI (Total Daily Intake) aangenomen. Aangezien bijvoorbeeld de gemiddelde visconsumptie sterk kan verschillen van regio tot regio varieert de toelaatbare concentratie in vis natuurlijk ook. Er zijn landen waar traditioneel veel vis wordt gegeten zoals de Maldiven ($160 \text{ kg/capita/jaar}$), IJsland ($92 \text{ kg/capita/jaar}$), Japan ($66 \text{ kg/capita/jaar}$), Noorwegen ($50 \text{ kg/capita/jaar}$),... en er zijn ook regio's (b.v. in sommige oosterse landen) waar vrijwel nooit vis wordt gegeten. De gemiddelde wereldconsumptie bedraagt $16 \text{ kg/capita/jaar}$ [website UCpress]. Rekening houdend met het feit dat het organotinprobleem vaak sterk gerelateerd is met de scheepvaart, lijkt het vrij logisch dat er in landen met een rijke vis- en scheepvaarttraditie het meest problemen verwacht worden. In onderstaand schema wordt een benaderende berekening gemaakt om een richtwaarde in vis voor een gemiddelde inwoner van Noorwegen te bekomen.



Maakt men dezelfde berekening voor een persoon van 50 kg in de Maldiven dan vindt men ongeveer 28 ng/g. De berekende waarden zijn concentraties die regelmatig overschreden worden in vis en schaaldieren (zie tabel 1.8) en een zekere bezorgdheid is dus niet onterecht. Anderzijds moet men ook in acht nemen dat het wereldgemiddelde inzake visconsumptie 10 keer lager is dan in de Maldiven, dat bij de aannahme van de TDI een veiligheidsmarge van 100 werd opgenomen en dat de NEL gebaseerd is op studies met ratten. Toch lijkt het niet ondenkbaar dat organotinverbindingen ook bij de mens voor toxicologische problemen kunnen zorgen, zeker in minder ontwikkelde landen waar het gebruik van pesticiden veel minder gereguleerd en gecontroleerd wordt en waar het dieet van de bevolking vaak veel minder variatie vertoont dan in vele westerse landen.

Naast problemen voor de mens kunnen er ook problemen ontstaan voor andere diersoorten. Een vergelijkbare methode als hierboven levert voor een dolfijn een richtwaarde op van ongeveer 7 ng/g.

Lucht

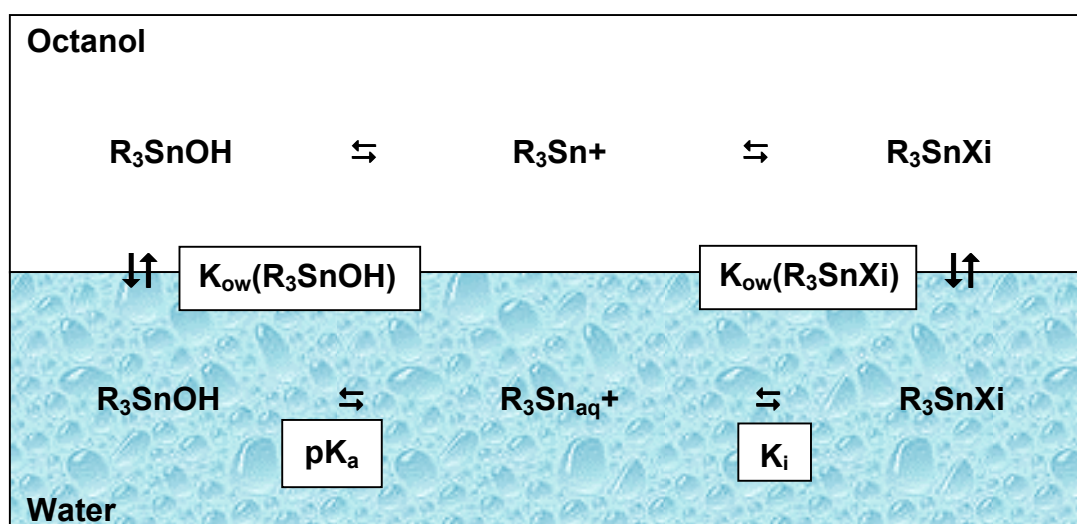
Zowel in de VS (Threshold Limit Value, TLV), Duitsland (Maximale Arbeitsplatz Konzentration, MAK) als het Verenigd Koninkrijk (Occupational Exposure Limit, OEL) wordt voor organotinverbindingen een waarde van 0,1 mg/m³ (als Sn) gebruikt. In de VS bestaat er ook een korte-termijn TLV van 0,2 mg/m³ [website IPCS]. Problemen met organotinverbindingen in de lucht lijken zich in eerste instantie te beperken tot plaatsen waar de producten gesynthetiseerd en/of opgeslagen worden. Bij het aanbrengen of verwijderen van organotinbevattende verven kunnen op dit vlak echter ook problemen optreden.

1.2.5 Aanwezigheid in het milieu

De aanwezigheid van organotinverbindingen in het milieu is vanzelfsprekend nauw verbonden met hun toepassingsgebied. Jammer genoeg komen deze verbindingen ook vaak terecht op plaatsen waar ze niet gewenst en soms ook onverwacht zijn.

Water

Alvorens in te gaan op de kwantitatieve informatie over de aanwezigheid van organotinverbindingen in water, zal eerst de kwalitatieve informatie toegelicht worden. Het is namelijk zo dat organotinverbindingen onder verschillende vormen in water aanwezig kunnen zijn. Daarenboven kunnen ze ook geadsorbeerd zijn aan organische deeltjes in het water. In figuur 1.13 is voor triorganotinverbindingen de aanwezigheid in water en een organische fractie schematisch weergegeven. De bijhorende constanten voor TBuT en TPhT worden vermeld in tabel 1.5.



Figuur 1.13: Schematische voorstelling van de inter- en intrafaseverdeling van een triorganotinverbinding.

Tabel 1.5: Evenwichtsconstanten voor TBuT en TPhT.

	TBuT (pK _a =6,25)		TPhT (pK _a =5,2)	
ligand	log K _{ow}	log K _i	log K _{ow}	log K _i
Cl ⁻	4,76	0,60	4,19	0,66
ClO ₄ ⁻	4,18	0,09	3,61	0,10
NO ₃ ⁻	3,49	0,62	2,97	0,26
OH ⁻	4,09	7,75	3,53	8,80

De relatief lage K_i 's voor de liganden (Xi) vergeleken met de hoge vormingsconstanten voor de hydroxy-vorm zijn het vermelden waard. In tegenstelling tot TBuTOH zal TBuTCl zich in water bijgevolg eerder als zout gedragen. Het ligand blijkt ook geen al te grote invloed te hebben op de distributie tussen water en organische fase. Neemt men de pK_a 's in acht, dan kan men afleiden dat in water bij lage pH R_3Sn^+ de dominante vorm is (gehydrateerd als $R_3SnH_2O^+$) en bij hogere pH R_3SnOH [Arnold, 1997]. De K_{ow} 's geven aan dat de verbindingen zich bij voorkeur in een apolair milieu ophouden.

Wat de kwantitatieve data betreft, is het, rekening houdend met hun gebruik in aangroeiwerende verf, niet te verwonderen dat organotinverbindingen, met name TBuT en TPhT vooral in zee- en havenwater worden vastgesteld (zie tabel 1.6).

Tabel 1.6: Enkele gerapporteerde concentraties van organotinverbindingen in water.

OT	Concentratie (ng/L)	Land	Soort water	Referentie
DBuT	10-73	V.S.	Haven	Hall, 1992
DBuT	8-70	België	Rivier	Ceulemans, 1993
DBuT	1,5-120	België	Haven	Dirkx, 1993
DBuT	15-30	Monaco	Haven	Tolosa, 1996
DBuT	0,12-2,4	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
DBuT	2-67	België	Rivier	De Smaele, 1998
DBuT	5-100	Zwitserland	Haven	Fent, 1991, B
DMeT	0,74-5	België	Haven	Dirkx, 1993
DPhT	ND (not detected) –0,014	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
MBuT	10-140	België	Rivier	Ceulemans, 1993
MBuT	1,1-38	België	Haven	Dirkx, 1993
MBuT	0,046-1,1	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
MBuT	0,6-51	België	24 waterlopen zonder scheepvaart	De Smaele, 1998
MBuT	2-73	Zwitserland	Haven	Fent, 1991, B
MMeT	0,88-10	België	Haven	Dirkx, 1993
MPhT	ND-0,038	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
TBuT	4,6	Frankrijk	Kust	Michel, 1999
TBuT	>100 (10 stations)	Frankrijk	Kust	Michel, 1999
TBuT	5-50	Frankrijk	Haven	Michel, 1997, A
TBuT	0,08-0,47	Frankrijk	Open zee	Michel, 1997, B

TBuT	0,04		Diepzee 1200 m	Michel, 1997, B
TBuT	100-400	Spanje	Haven	Gomez-Ariza, 1992
TBuT	21-180	V.S.	Haven	Hall, 1992
TBuT	570 (max.)	V.S.	Haven	Hall, 1992
TBuT	2300-18000	Bahrain	Haven	Hasan, 1992
TBuT	ND-71	U.K.	Riviermonding	Dowson, 1992
TBuT	4-10	België	Rivier	Ceulemans, 1993
TBuT	1,8-440	België	Haven	Dirkx, 1993
TBuT	0,4-10	Noorwegen	Fjord	Folsvik, 2000
TBuT	66-470	Mexico	Zee	MaciasCarranza, 1997
TBuT	40-50	Zwitserland	Haven	Fent, 1995
TBuT	460 (max.)	Frankrijk	Kust	Tolosa, 1996
TBuT	0,5-31	Spanje	Rivier-monding	Gomez-Ariza, 2001
TBuT	8-74	Japan	Zee	Harino, 1998
TBuT	84-120	Monaco	Haven	Tolosa, 1996
TBuT	0,025-0,42	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
TBuT	1,4-9	België	Rivier	De Smaele, 1998
TBuT	100-750	Zwitserland	Haven	Fent, 1991, B
TPhT	10-29	Monaco	Haven	Tolosa, 1996
TPhT	4	Spanje	Haven	Compano, 1994
TPhT	ND-0,029	Japan	Open zee	Hiroaki, 1999
TPhT	ND-190	Zwitserland	Haven	Fent, 1991, B
TPhT	1,1-4,3	Nederland	Polders	Stäb, 1994

Alhoewel deze tabel slechts een fractie van de beschikbare data bevat, is het duidelijk dat op verschillende plaatsen streef- en soms ook grenswaarden overschreden 'werden' en waarschijnlijk nog steeds 'worden'. Zoals verwacht, situeren de problemen zich vooral in de buurt van havens en plaatsen met drukke scheepvaart. De vrij lage concentraties in open zee lijken een zekere geruststelling, maar jammer genoeg vormt dit geen mogelijke biotoop voor vele van de zeer gevoelige organismen. Uit bovenstaande tabel blijkt ook nogmaals de dominantie van TBuT qua 'bestudeerde' stof ten opzichte van andere organotinverbindingen. In tegenstelling tot de meeste vermeldingen is het aantreffen van TPhT in water in de Nederlandse polders niet het gevolg van scheepvaart maar van toepassingen als fungicide in de aardappelteelt. Uit een studie van Stäb [Stäb, 1993] bleek dat de concentratie van TPhT in een beek, drie uur na toepassing van een fentinhoudend pesticide op een naburig aardappelveld, 520 ng/L bedroeg. 16 dagen later bleek de concentratie op dezelfde plaats nog 5 ng/L te bedragen zonder dat er een toename

aan DPhT of MPhT werd waargenomen. De auteur vermoedt dat dit te wijten is aan het adsorberen van TPhT aan sediment.

Naast de aanwezigheid in 'open' water, zijn er ook studies die rapporteren over de aanwezigheid van organotinverbindingen in drinkwater. Forsyth en Jay [Forsyth, 1997] vonden dat bij verhoogde temperatuur (65 °C) MBuT en DBuT uit nieuwe PVC-buizen werden uitgeloozd. Bij een statisch experiment werden na 24 uur concentraties van 19,8 µg/L (MBuT) en 197 µg/L (DBuT) gedetecteerd. Vooral butyltins bleven langdurig uitlogen en konden zelfs na 20 opeenvolgende extracties nog gedetecteerd worden. Een andere studie [Sadiki, 1996, A] toont de aanwezigheid van MMeT (max. 22 ng/L) en MBuT (max. 44 ng/L) in water afkomstig van een drinkwaterdistributiecentrum aan. In dezelfde studie werd er in het inkomende water geen organotin aangetroffen waaruit blijkt dat deze stoffen hoogstwaarschijnlijk uit bepaalde componenten van het distributiecentrum werden uitgeloozd. Dezelfde onderzoeker vond ook MMeT (0,5-257 ng/L) en DMeT (0,5-6,5 ng/L) terug in drinkwater bij een studie waarbij 22 huizen betrokken waren [Sadiki, 1996, B]. Alhoewel triorganotinverbindingen niet gebruikt worden als stabilisator in de polymeerindustrie, zouden kleine sporen van bijvoorbeeld TBuT in de gebruikte di- en monoorganotinverbindingen aanwezig kunnen zijn. Gezien de concentraties van deze stabilisatoren in de plastics (tot 0,5%), valt het niet uit te sluiten dat kleine hoeveelheden TBuT eveneens uit deze plastics kunnen uitlogen.

In vele gevallen ligt de bron van organotincontaminatie voor de hand (b.v. TBuT in havenwater door de toepassing op schepen), maar niet altijd. In Zwitserland werden MBuT (140-560 ng/L), DBuT (130-1030 ng/L) en TBuT (60-220 ng/L) aangetroffen in huishoudelijk afvalwater [Fent, 1996]. Aangezien de organotinverbindingen voornamelijk geassocieerd zijn met gesuspendeerde deeltjes, kan een groot deel uit het water verwijderd worden in het waterzuiveringsstation bij de bezinkingsstap. In het effluent waren organotinconcentraties in de range van <1-17 ng/L terug te vinden. Alhoewel beduidend lager dan bij het influent, toch nog in de buurt van bepaalde grenswaarden.

Wanneer de gerapporteerde concentraties vergeleken worden met grens- en streefwaarden mag het duidelijk zijn dat de aanwezigheid van organotinverbindingen

in verschillende gebieden van de waterhuishouding problematisch te noemen is. In grondwater werden, voor zover ons bekend, vooralsnog geen organotinverbindingen vastgesteld. Uit een Nederlandse studie [Loch, 1990] blijkt dat TPhT-acetaat in de onderzochte bodemtypes quasi immobiel is en dat de kans op grondwaterverontreiniging door uitloging klein is. Eenzelfde conclusie voor deze stof werd gemaakt door Yen die een uitlogingssnelheid van 1 cm per dag berekende in een vochtige leembodem [Yen, 2001].

Bodem

Rekening houdend met het organisch karakter van organotinverbindingen en hun aanwezigheid in waterig milieu valt het niet te verwonderen dat organotinverbindingen ook frequent aan tal van sedimenten worden teruggevonden. Slechts een fractie van de gepubliceerde waarden is weergegeven in tabel 1.7.

Tabel 1.7: Enkele gerapporteerde concentraties van organotinverbindingen in de bodem.

OT	Concentratie (µg/kg)	Land	Referentie
DBuT	ND-17	België	De Smaele, 1998
DBuT	ND-130	Duitsland	Wilken, 1994
DBuT	8500	Canada	Maguire, 1986
DBuT	2700	Duitsland	Jantzen, 1993
DBuT	1100	Frankrijk	Aguerre, 1999
DPhT	59	Frankrijk	Aguerre, 1999
DPhT	ND-180	Zwitserland	Fent, 1991, B
MBuT	0,1-12	België	De Smaele, 1998
MBuT	ND-250	Duitsland	Wilken, 1994
MBuT	3400	Canada	Maguire, 1986
MBuT	1600	Duitsland	Jantzen, 1993
MBuT	190	Frankrijk	Aguerre, 1999
MPhT	43	Frankrijk	Aguerre, 1999
MPhT	ND-68	Zwitserland	Fent, 1991, B
Som BuT	0,5-280	Spanje	Gomez-Ariza, 2000
Som BuT	27-1800	Zuid-Korea	Shim, 1999
TBuT	10-640	Japan	Harino, 1998
TBuT	37-1100	Canada	Regoli, 2001
TBuT	33-1000	Mexico	MaciasCarranza, 1997
TBuT	4-380	Zuid-Korea	Shim, 1999

TBuT	0,6-160	Spanje	Gomez-Ariza, 2001
TBuT	570-17000	Duitsland	Biselli, 2000
TBuT	530	Nederland	Stäb, 1993
TBuT	50	Nederland	Stäb, 1993
TBuT	0,1-11	België	De Smaele, 1998
TBuT	7000 (max.)	Nederland	Ritsema, 1997
TBuT	100-420	Duitsland	Wilken, 1994
TBuT	11000	Canada	Maguire, 1986
TBuT	14000	Duitsland	Jantzen, 1993
TBuT	260	Frankrijk	Aguerre, 1999
TeBuT	ND-410	Duitsland	Wilken, 1994
TPhT	ND-3800	Duitsland	Biselli, 2000
TPhT	140	Nederland	Stäb, 1993
TPhT	5	Nederland	Stäb, 1993
TPhT	ND-110	Zwitserland	Fent, 1991, B

De verdeling van organotinverbindingen tussen water en bodem werd onder andere bestudeerd door Dowson [Dowson, 1993]. Hij vond dat in zoet water MBuT, en in mindere mate TBuT, zich aan bodemdeeltjes gaan hechten. DBuT verdeelde zich 50/50 over waterige fase en deeltjesfase. In zout water hecht MBuT zich vrijwel volledig aan deeltjes, verdeelt TBuT zich voor ongeveer 80/20 over water/deeltjes en is DBuT oplosbaar. Dowson vond ook dat het adsorptiegedrag van deze drie verbindingen reversibel was, een stelling die ook terug te vinden is bij Weidenhaupt [Weidenhaupt, 1997]. Deze laatste maakte een grondige studie van de adsorptie van TBuT en TPhT. Hieruit bleek dat adsorptie vooral een kwestie van kationuitwisseling was van triorganotinkationen (TOT^+) op de negatief geladen sites van een mineraaloppervlak ($=\text{XO}^-$). Adsorptie bleek sterk pH-afhankelijk te zijn en was maximaal bij een pH waarbij voldoende negatief geladen sites én voldoende positief geladen organotinverbindingen aanwezig waren, een karakteristiek die vooral bij silica te vinden is. Naast dit soort sorptie speelt sorptie aan/in de organische fractie ook een belangrijke rol.

Door de reversibele adsorptie aan bodemdeeltjes kan de bodem ook als een toekomstige contaminatiebron van organotinverbindingen beschouwd worden. Uit het werk van Stäb blijkt bijvoorbeeld dat TPhT meer dan TBuT via de bodem wordt doorgegeven aan levende organismen [Stäb, 1996].

Het adsorptiegedrag van organotinverbindingen beïnvloedt ook de afbraaksnelheid in het milieu, onder meer het soort sediment speelt een belangrijke rol bij de adsorptie en degradatie. Nog belangrijker blijkt het (an)aërobe karakter van de bodem te zijn. Dowson [Dowson, 1996] vond voor TBuT een halfwaardetijd tussen één en twee jaar in aërobe riviersedimenten, onder anaërobe omstandigheden bleek deze in de orde van tientallen jaren te zijn. Voor TPhT werd onder anaërobe omstandigheden eveneens een halfwaardetijd van meer dan 10 jaar berekend [Fent, 1991]. Degradatie van TBuT gebeurt vermoedelijk naar DBuT dat via de waterkolom kan ontsnappen of verder naar MBuT, dat op zijn beurt via dezelfde weg kan verwijderd worden.

Een belangrijke vraag is in welke mate biodegradatie bijdraagt tot de afbraak van bepaalde organotinverbindingen. Uit onderzoek van Yen [Yen, 2001] bleek de afbraak van TPhT in een gesteriliseerde bodem even snel te zijn als bij een niet-gesteriliseerde waaruit men zou kunnen concluderen dat biodegradatie voor deze component geen belangrijke factor is. In een vochtige leembodem werd een halfwaardetijd van ongeveer 150 dagen vastgesteld. Een sterke afname in halfwaardetijd werd verkregen bij hogere temperatuur (1 tot 2 weken bij 30 a 40 °C).

Een ander probleem dat zich blijkbaar stelt is het aantreffen van organotinverbindingen in rioolslib. Zoals reeds vermeld, werden organotinverbindingen in influent en (in mindere mate) effluent van waterzuiveringsstations in Zwitserland gevonden. In hetzelfde onderzoek vond men in het slib voor MBuT, DBuT en TBuT concentraties in de ppm-range. Voor MPhT, DPhT en TPhT waren de concentraties iets lager maar toch ook alarmerend [Fent, 1996]. Ook Müller vond in rioolslib MBuT, DBuT, TBuT, DPhT en TPhT in concentraties tussen 2 en 9 ppm [Müller, 1987]. Bij het verwijderen en verwerken van dit slib zal dus ook rekening moeten gehouden worden met dit probleem.

Levende wezens en voedsel

Rekening houdend met de soms hoge concentraties in de waterhuishouding is het niet verwonderlijk dat tal van levende wezens die in of nabij het water leven organotinverbindingen gaan opnemen en accumuleren. In de volgende tabel (tabel

1.8) is een overzicht gegeven van enkele van de vele meldingen van organotinverbindingen in verschillende organismen.

Tabel 1.8: Enkele gerapporteerde concentraties van organotinverbindingen in levende organismen.

OT	Concentratie ng/g	Organisme	Land	Referentie
DBuT	1-26	Vis (gekweekt)	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
DBuT	1-4	Vis (wild)	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
DBuT	4 (gem.)	Mossel	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
DBuT	4,6	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
DBuT	2800	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
DBuT	149	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
DBuT	5-20	Oester	Frankrijk	Yamanaka, 2000
DBuT	170-910	Purperslak	Spanje	Ruiz, 1998
DBuT	4-1100	Mossel	Spanje	Morcillo, 1998
DBuT	7,6	Mossel (in azijn)	België	Ceulemans, 1994
DPhT	28	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
DPhT	260	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
DPhT	22	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
MBuT	1,6	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
MBuT	310	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
MBuT	14	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
MBuT	0,5-8,3	Oester	Frankrijk	Yamanaka, 2000
MBuT	65-390	Purperslak	Spanje	Ruiz, 1998
MBuT	10-200	Mossel	Spanje	Morcillo, 1998
MBuT	500	Mossel	Italië	Caricchia, 1994
MBuT	5,4	Mossel (in azijn)	België	Ceulemans, 1994
MPhT	0,2	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
MPhT	14	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
MPhT	19	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
MPhT	ND-3,0	Oester	Frankrijk	Yamanaka, 2000
Som BuT	3,7-64	Mossel	Indonesië	Sudaryanto, 2000
Som PhT	77-12000	Krab	Japan	Kannan, 1995
TBuT	1-93	Vis (wild)	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
TBuT	2-260	Vis (gekweekt)	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
TBuT	5 (gem.)	Mossel	Italië	Amodo-Cocchieri, 2000
TBuT	240-9800	Plankton	Japan	Harino, 1998
TBuT	40-180	Mossel	Japan	Harino, 1998
TBuT	100-130	Kammossel	Japan	Harino, 1998
TBuT	10-20	Vis	Japan	Harino, 1998
TBuT	27-220	Vis	Duitsland	Shawky, 1998

TBuT	10-25	Mossel	Duitsland	Shawky, 1998
TBuT	37-1100	Mossel	Canada	Regoli, 2001
TBuT	9-150	Zoetwatermossel	Canada	Yang, 2001
TBuT	31	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
TBuT	69	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
TBuT	14	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
TBuT	7-140	Oester	Frankrijk	Yamanaka, 2000
TBuT	280 (max.)	Inktvis (lever)	Japan	Yamada, 1997
TBuT	5400 (max.)	Mossel	Spanje	Morcillo, 1997
TBuT	9200	Mossel	Zwitserland	Fent, 1995
TBuT	4,9	Mossel	Japan	Horiguchi, 2000
TBuT	200-1100	Mossel	Spanje	Morcillo, 1999
TBuT	48-1100	Purperslak	Zuid-Korea	Folsvik, 1999
TBuT	36-970	Purperslak	Spanje	Ruiz, 1998
TBuT	23-1500	Schelpdieren	Spanje	Gomez-Ariza, 2001
TBuT	5-510	Rotsslak	Zuid-Korea	Shim, 2000
TBuT	11-180	Vis	Japan	Harino, 2000
TBuT	290	Krab	Spanje	Morcillo, 2000
TBuT	1-1200	Mossel	Spanje	Morcillo, 1998
TBuT	3000	Mossel	Italië	Caricchia, 1994
TBuT	11-120	Vis	Japan	Nagase, 1993
TBuT	14	Mossel (in azijn)	België	Ceulemans, 1994
TPhT	140	Snoek (filet)	Nederland	Stäb, 1996
TPhT	460	Snoek (lever)	Nederland	Stäb, 1996
TPhT	11	Fuut (lever)	Nederland	Stäb, 1996
TPhT	ND-2,0	Oester	Frankrijk	Yamanaka, 2000
TPhT	520 (max.)	Inktvis(lever)	Japan	Yamada, 1997
TPhT	700	Mossel	Zwitserland	Fent, 1995
TPhT	6,3	Mossel	Japan	Horiguchi, 2000
TPhT	39-250	Purperslak	Spanje	Ruiz, 1998
TPhT	3-2500	Rotsslak	Zuid-Korea	Shim, 2000
TPhT	ND-130	Vis	Japan	Harino, 2000
TPhT	4-22	Krab	Spanje	Morcillo, 2000
TPhT	3-92	Mossel	Spanje	Morcillo, 1998
TPhT	1000	Mossel	Italië	Caricchia, 1994
TPhT	1-3	Aardappel	V.K.	Vernon, 1974
TPhT	10-520	Vis	Japan	Nagase, 1993
TPhT	19	Mossel (in azijn)	België	Ceulemans, 1994

Wanneer we de waarden in bovenstaande tabel vergelijken met de concentraties berekend op basis van de aanvaardbare TDI moeten we vaststellen dat op verschillende plaatsen organotinverbindingen in eetbare organismen worden

teruggevonden aan niveaus die in de buurt komen van de berekende waarden, of ze zelfs overschrijden. Rekening houdend met de verschillende aspecten die bij deze berekening een rol spelen valt het zeker niet uit te sluiten dat bepaalde bevolkingsgroepen op bepaalde locaties een te hoge dosis organotinverbindingen te verwerken krijgen. Momenteel bestaan er nog geen richt- of grenswaarden voor organotinverbindingen in voedsel, noch een algemeen aanvaarde methode om deze te bepalen. Alhoewel bijvoorbeeld de gemiddelde Vlaming met een gevarieerd dieet waarschijnlijk niet veel te vrezen heeft van organotinverbindingen is voorzichtigheid en op zijn minst sporadische controle toch aan te raden.

Net als bij de accumulatie van organotinverbindingen aan bodemdeeltjes, treedt er bij levende wezen een bio-accumulatie op. Hierbij wordt de BCF (Bio Concentratie Factor) gedefinieerd als:

$$\text{BCF} = \frac{[\text{organotin}]_{\text{organisme}}}{[\text{organotin}]_{\text{water}}}$$

Waarbij beide concentraties bij voorkeur in massa per (natte) massa worden uitgedrukt. In tabel 1.9 zijn enkele BCFs vermeld voor TBuT en TPhT.

Tabel 1.9: Bio Concentration Factors voor TBuT en TPhT.

OT	Organisme	BCF	Referentie
TPhT	Krab	$8 - 44 \times 10^4$	Kannan, 1995
TBuT	Zoetwateralg	$3,3 \times 10^5$	Huang, 1993
TPhT	Zoetwateralg	$1,1 \times 10^5$	Huang, 1993
TBuT	Vis	$9,4 - 11 \times 10^3$	Yamada, 1992
TPhT	Vis	$3,1 - 4,1 \times 10^3$	Yamada, 1992
TBuT	Mossel	$10,5 - 10^3$	Suzuki, 1998

Deze accumulatie in levende wezens is niet te verwonderen. Grotendeels is ze toe te wijzen aan de voorkeur van de verbindingen voor een organische fractie boven een waterige. Daarenboven speelt ook de afbraak in het lichaam van het organisme een rol, hoe trager de afbraak, hoe gemakkelijker een stof zich zal opstapelen. Dit laatste gegeven is vrij complex en hangt af van de soort organotinverbinding en van het organisme zelf. Stäb vond in de lever van vissen en watervogels relatief veel hogere concentraties van de biodegradatieproducten van TBuT (MBuT en DBuT) dan van TPhT (MPhT en DPhT) en besloot daaruit dat TBuT sneller gemetaboliseerd werd dan TPhT [Stäb, 1996]. Deze redenering kan echter voorbarig zijn omdat ze blijkbaar geen rekening houdt met het feit dat MBuT en DBuT ook frequent als dusdanig in het milieu terechtkomen (b.v. door uitloging uit PVC), daar waar de aanwezigheid van MPhT en DPhT vrijwel uitsluitend te wijten is aan afbraak van TPhT.

Naast de aanwezigheid van organotinverbindingen in levende organismen zijn er ook al meerdere gevallen gerapporteerd van organotinverbindingen in dranken. Forsyth et al. vonden MOcT, DOcT, MBuT, DBuT en TBuT in wijn [Forsyth, 1994]. DBuT kwam het meest frequent voor, concentraties tot 1440 ng/L werden gedetecteerd. Dezelfde auteur vond ook butyl- en octyltins in de lage µg/L-range in fruitsappen [Forsyth, 1992, A] en in bier [Forsyth, 1992, B]. Ook MPhT, DCT en TCT werden gedetecteerd, maar wel enkel in de ng/L-range. Naast Forsyth vond ook Jiang DOcT (tot 9500 ng/L) en TBuT in dranken [Jiang, 1999]. Gezien de identiteit van de gevonden organotinverbindingen zijn ze in de meeste gevallen waarschijnlijk afkomstig uit PVC dat gebruikt werd in de productieketen.

Lucht

Organotinverbindingen kunnen 'als dusdanig' in lucht aanwezig zijn, of kunnen geassocieerd met aërosolen voorkomen. Het eerste zal vooral voor tetraorganotinverbindingen het geval zijn, het tweede voor de andere soorten. Het tweede geval is een gegeven dat meestal een rechtstreeks gevolg is van de toepassing van de organotinverbindingen. Zo kunnen bij het aanbrengen van anti-fouling verven of bij het besproeien van gewassen met TPhT-bevattende pesticiden organotinverbindingen in de lucht terechtkomen. Stäb vond TPhT in regenwater tot op 20 km afstand van velden die behandeld waren met deze stof [Stäb, 1994].

Zoals eerder vermeld, is het gebruik van tetraorganotinverbindingen relatief beperkt en is de rechtstreekse antropogene inbreng van deze stoffen verwaarloosbaar. Deze verbindingen kunnen echter ook ontstaan door biologische of chemische methylatie. Nadat Challenger decennia geleden biomethylatie bij As en Se aantoonde [Challenger, 1935] kwam er ook interesse in mogelijke methylatie van andere metalen. Midden jaren '70, begin jaren '80 werd ook biomethylatie van anorganisch Sn door verschillende auteurs aangetoond [Huey, 1974], [Dizikes, 1978], [Hallas, 1982], [Jackson, 1982], [Ashby, 1988]. Naast methylatie van anorganisch Sn kunnen ook organotinverbindingen rechtstreeks gemethyleerd worden [Makkar, 1990], [Errecalde, 1995], [Vella, 2001]. Methylatie kan naast biologisch, ook abiologisch gebeuren [Hamasaki, 1991] en in sommige gevallen is het ver van duidelijk welk proces er effectief voor de omzetting zorgt. De vraag volgens welk mechanisme de methylatie plaatsvindt is echter vaak van ondergeschikt belang, belangrijker is dat ze plaatsvindt en dat bijvoorbeeld in de bodem parameters als vochtigheid, temperatuur, pH en samenstelling van de bodem een zeer belangrijke rol spelen. Zo blijkt dat TBuT vooral methylatie ondergaat in een sulfaatreducerende omgeving en debutylatie in een nitraatreducerende omgeving [Yonezawa, 1994].

Naast het laboratoriumonderzoek over methylatie van Sn of organotinverbindingen zijn er ook meldingen van uit het veld. Donard stelde vast dat organotinverbindingen onder gemethyleerde vorm uit rioolwater verdampen [Donard, 1993]. Feldmann rapporteerde de aanwezigheid van verschillende organotinverbindingen in gassen afkomstig van een stortplaats. Me_4Sn en $\text{Et}_2\text{Me}_2\text{Sn}$ konden daarbij geïdentificeerd worden [Feldmann, 1998]. Amouroux vond vooral gemethyleerde butyltinverbindingen ($\text{Bu}_n\text{SnMe}_{4-n}$, $n = 0-3$) afkomstig uit water en sedimenten van gecontamineerde riviermondingen in Frankrijk en België [Amouroux, 2000].

Kwantificatie van organotinverbindingen in lucht of gassen is zeer zeldzaam. Vermoedelijk omdat de kalibratie voor problemen zorgt. Stäb voerde wel een analyse uit van regenwater in de omgeving van landbouwgronden waar TPhT gebruikt werd en vond ongeveer 10 ng/L. Een verband tussen de concentratie in het regenwater en die in de lucht werd echter niet gerapporteerd.

Conclusie

Alhoewel het aantreffen van organotinverbindingen in verschillende matrices als alarmerend kan worden beschouwd (o.a. door Greenpeace), moeten vele resultaten toch met een zekere voorzichtigheid in acht genomen worden. De 'aanwezigheid' van een organotinverbinding is namelijk nog iets anders dan de biologische 'beschikbaarheid' van die verbinding. In vele gevallen (b.v. zeer hoge concentraties organotinverbindingen in havenwater en/of sedimenten) is er echter geen twijfel over het desastreuze effect op het locale ecologisch evenwicht. In tegenstelling tot wat de producenten van organotinhoudende verven beweren, lijkt er zich dus wel degelijk een probleem te stellen met de huidige concentraties (zie verder) aan organotinverbindingen in het milieu. Als men de grens- en streefwaarden in beschouwing neemt, blijkt ook dat er op bepaalde vlakken nog heel wat (zware) inspanningen zullen moeten geleverd worden.

Het standpunt van de industrie is terug te vinden op de website van ORTEPA (Organotin Environmental Programme Association): www.ortepa.org. Deze groepering bestaat uit verschillende producenten van organotinverbindingen die, naar eigen zeggen, de wetenschappelijke informatie in verband met organotinverbindingen beter willen verspreiden en die ook als sponsors optreden voor bepaald onderzoek. In de praktijk wil men echter vooral de ecologische gevolgen van organotinverbindingen minimaliseren, in de eerste plaats door heel selectieve informatie en interpretatie.

1.2.6 Organotinverbindingen in de actualiteit

Los van de wetenschappelijk publicaties en de acties van de Internationale Maritieme Organisatie (IMO, zie verder) hebben organotinverbindingen de laatste jaren regelmatig de actualiteit gehaald. In vrijwel alle gevallen op een negatieve manier. Zoals reeds eerder werd aangehaald was er het incident in China waarbij verschillende doden vielen op nieuwjaarsdag 1999.

In januari 2000 bracht een consumentenprogramma op de Duitse televisie melding van TBuT in voetbalshirts van onder andere Borussia Dortmund. Fabrikant Nike reageerde vrijwel onmiddellijk met een onderzoek en een persnota. Daarin stond, gesteund door getuigenissen van diverse wetenschappers, dat de shirts geen gevaar voor de gezondheid vormden. Ook andere fabrikanten (b.v. Adidas) startten een onderzoek naar mogelijke aanwezigheid van organotinverbindingen in hun eigen producten. Volgens sommige bronnen was de aanwezigheid te wijten aan de verf die gebruikt was bij de opdruk, een andere hypothese wees eerder in de richting van Aziatische landen waar een deel van de productie plaatsvindt. Nike heeft sinds de eerste persnota geen officieel commentaar meer over deze zaak gegeven en ondertussen is nog steeds niet echt duidelijk hoe de organotinverbindingen in de shirts terecht kwamen [website Nike], [website Cleanclothes].

Het feit dat Greenpeace de strijd tegen TBuT als een hoofddoelstelling heeft opgenomen zorgt natuurlijk ook voor de nodige mediabelangstelling (zie figuur 1.14). Greenpeace haalde in mei 2000 ook de actualiteit met de vondst van organotinverbindingen in luiers van verschillende bekende merken. Hun persnota's van 12 en 19 mei zorgden voor heel wat opschudding en haalden het wereldnieuws [Greenpeace persnota]. Greenpeace bracht melding van concentraties tot 38 μg TBuT/kg luier (in hun eerste persnota werd microgram per vergissing afgekort als "mg") en riep de bevolking op om betrokken luiers terug te brengen naar de winkels. Greenpeace bracht ook in verschillende landen ministers van welzijn/gezondheid/milieu op de hoogte. In Duitsland werd het Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) door het ministerie om advies gevraagd. Alhoewel deze de gevonden concentraties niet als een potentieel gevaar beschouwden was het



Figuur 1.14: Actie van Greenpeace waarbij met TBuT verontreinigd havenslib bij de autoriteiten wordt afgeleverd.

instituut toch van mening dat TBut niet thuishoorde in deze artikelen [website BgVV]. In België werd door het kabinet van minister van volksgezondheid Magda Aelvoet enkele dagen later een vergelijkbaar standpunt ingenomen [website ministerie volksgezondheid]. Niettegenstaande deze geruststellende berichten gingen de betrokken producenten snel tot actie over om deze contaminatie te onderzoeken en snel op te lossen.



Figuur 1.15: De vastgelopen MV *Bunga Teratai Satu*.

Aan de andere kant van de wereld zorgden organotinverbindingen voor opschudding nadat in november 2000 het containerschip *MV Bunga Teratai Satu* was vastgelopen in het Sudbury Rif, een deel van het Groot Barrière Rif, een van de ecologisch meest waardevolle, maar ook meest kwetsbare gebieden ter wereld (zie figuur 1.15). Alhoewel het schip binnen enkele dagen kon worden vrijgemaakt, bleek een relatief groot gebied waardevol koraalrif beschadigd en gecontamineerd door de anti-fouling verf van het schip. Volgens sommige schattingen zou 1 ton verf op het rif zijn achtergebleven. Concentraties tot 3600 ng/g (als Sn) en koraalbeschadiging door TBut tot 250 m van de plaats waar het schip was vastgelopen

werden vastgesteld. De Great Barrier Reef Marine Park Authority besloot om de schade volledig te herstellen door zoveel mogelijk gecontamineerd koraal te verwijderen. Het opruimen van verffragmenten en koraal was een wereldprimeur en vond plaats van begin januari tot eind maart 2001. Het is de bedoeling om de evolutie van de contaminatie gedurende de komende 10 jaar van dichtbij te volgen [website GBRMPA].

In september 2001 haalden organotinverbindingen de nationale publiciteit. Deze keer onder de vorm van een persnota van de Vlaamse Milieumaatschappij (VMM) in verband met het jaarrapport over de waterkwaliteit in 2000 [VMM, 2001]. Alhoewel geen concentraties vermeld werden, blijkt de contaminatie van verschillende havenbodems met TBut en TPhT zeer ernstig te zijn. De volgende reactie van

Philippe D'Hondt (verantwoordelijk voor "Meetnetten en onderzoek") op de vraag wat er aan deze ernstige contaminatie kon gedaan worden, verscheen in Het Nieuwsblad: "Remedies? Uitbaggeren is dweilen met de kraan open wanneer men het spul blijft gebruiken. Het lijkt ons efficiënter de vervuiler aan te pakken..." [Nieuwsblad, 2001].

Veel van deze meldingen, de een al wetenschappelijker dan de andere, vragen om een uitgebreid onderzoek en zijn ook indicaties van de noodzaak aan geschikte technieken om organotinverbindingen in verschillende matrices snel en accuraat te kunnen bepalen.

1.2.7 Wetgeving

De wetgeving betreffende organotinverbindingen is, net als voor vele andere stoffen, een vrij complexe zaak. Daarom is het ook niet de bedoeling om volledig te zijn, maar enkel om de belangrijkste en meest in het oog springend facetten aan te halen.

Een zeer belangrijke stap in de wetgeving omtrent organotinverbindingen werd vrij recent in Londen gezet. Begin oktober 2001 werd er op initiatief van het Marine Environment Protection Committee (MEPC) de 'International Conference on the Control of Harmful Anti-Fouling Systems for Ships' gehouden in het hoofdkwartier van de IMO. Het IMO is een agentschap van de Verenigde Naties (VN) met ongeveer 160 lidstaten (vrijwel alle landen die bij scheepvaart betrokken zijn). Tijdens deze diplomatieke conferentie werd de 'International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships' aangenomen. Deze conventie houdt in dat schepen vanaf 1 januari 2003 geen organotinbevattende verven meer zullen mogen 'toepassen' en dat tegen 1 januari 2008 deze verbindingen niet meer op de scheepsrompen aanwezig mogen zijn. Schepen zullen vanaf dan ook in het bezit moeten zijn van een certificaat betreffende het 'organotin-vrij' zijn en de grotere types schepen zullen hiervoor ook een onderzoek moeten ondergaan. De conventie gaat in 12 maanden nadat 25 landen met samen 25% van de wereldvloot (qua tonnage) ermee hebben ingestemd en lijkt de doodsteek van de organotinbevattende anti-fouling verven te zijn [IMO, 2001].

Op Europees niveau waren een aantal richtlijnen van groot belang op het vlak van beleid ten opzichte van organotinverbindingen.

• Richtlijn 76/769/EEC

van de Raad van 27 juli 1976 handelde over de “onderlinge aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen der lidstaten inzake de beperking van het op de markt brengen en van het gebruik van bepaalde gevaarlijke stoffen en preparaten.” In deze richtlijn werden echter nog geen organotinverbindingen vermeld [website EUR-LEX, 1976].

• Richtlijn 89/677/EEG

van de Raad van 21 december 1989 vormde de achtste wijziging van richtlijn 76/769/EEC en introduceerde voor het eerst organotinverbindingen. Belangrijk bij deze richtlijn was dat grotere schepen volledig ongemoeid werden gelaten. Volgende tekst werd toegevoegd:

Organische tinverbindingen

1. Worden niet toegelaten als verbindingen en bestanddelen van preparaten die bestemd zijn om te worden gebruikt ter voorkoming van de aangroeiing van micro-organismen, planten of dieren op:

a) scheepsrompen met een lengte over alles, zoals gedefinieerd in ISO-norm 8666, van minder dan 25 meter;

b) fuiken, drijvers, netten, alsmede alle overige apparatuur of uitrusting die bij de teelt van vissen en schaal- en schelpdieren wordt gebruikt;

c) alle apparatuur of uitrusting die zich geheel of gedeeltelijk onder water bevindt.

2. Worden niet toegelaten als verbindingen en bestanddelen van preparaten die bestemd zijn om te worden gebruikt bij de behandeling van industrieel water, ongeacht het gebruik daarvan.

[website EUR-LEX, 1989]

• Richtlijn 1999/51/EG

van de Commissie van 26 mei 1999 vormde de vijfde aanpassing aan de technische vooruitgang van bijlage I bij Richtlijn 76/769/EEG. Ze bevat volgende wijziging:

(2) Overwegende dat het gebruik van sommige organische tinverbindingen, met name tributyltin (TBT), voor aangroeiwering nog steeds risico's oplevert voor het aquatisch milieu en de gezondheid van de mens en bijvoorbeeld wellicht kan leiden tot een verstoring van het endocriene systeem; dat de Internationale Maritieme Organisatie (IMO) zich bewust is van

de risico's van TBT en het Comité voor de bescherming van het mariene milieu van de IMO heeft opgeroepen tot een wereldwijd verbod op het gebruik van organische tinverbindingen als biocide in aangroeiwerende systemen voor schepen met ingang van 1 januari 2003; dat de bepalingen voor TBT met volledige inachtneming van de ontwikkelingen binnen de IMO opnieuw zullen worden gezien; dat er aangroeiwerende producten zijn ontwikkeld die zorgen voor een gereguleerde afgifte van TBT en dat deze dienen te worden gebruikt in plaats van losgebonden verf;

(3) Overwegende dat vooral het milieu in binnenwateren en de Oostzee bijzonder kwetsbaar is; dat het gebruik van TBT in de binnenwateren van de Gemeenschap dient te worden verboden; dat als tijdelijke maatregel aan Oostenrijk en Zweden zal worden toegestaan strengere bepalingen te houden voor het gebruik van TBT in dit kwetsbare milieu;

[website EUR-LEX, 1999]

Deze richtlijn 'wacht' als het ware op de IMO (om de Europese scheepvaartindustrie op economisch vlak te beschermen) en heeft enkel belang omdat ze losgebonden verf en ook het gebruik in binnenwateren verbiedt.

De Europese richtlijnen dienen op nationaal vlak in de wetgeving ingebouwd te worden. België had niet enkel de bedoeling om deze richtlijnen in de nationale wetgeving in te voeren door wijziging van het koninklijk besluit van 25 februari 1996 ("tot beperking van het op de markt brengen en van het gebruik van bepaalde gevaarlijke stoffen en preparaten"), maar wou in juli 2000 onder impuls van federaal minister van leefmilieu Aelvoet verder gaan en een volledig verbod op organotinverbindingen in aangroeiwerende verf invoeren. De aanvraag werd echter afgewezen door de Commissie omdat ze strenger was dan de Europese wetgeving [website EUR-LEX, 2000].

Duitsland wou in juli 2001 nog verder gaan met niet alleen een "verbod op het op de markt brengen en het gebruik van organische tinverbindingen in alle aangroeiwerende producten met ingang van 1 januari 2003" (cfr. Belgische aanvraag), maar ook een "verbod op het gebruik van organische tinverbindingen voor een reeks andere toepassingen: houtconservering, impregnatie van zwaar industrieel textiel en de samenstellende garens ervan en behandeling van consumptieartikelen". Een stelling die duidelijk voortkwam uit de Pampers/Nike affaires [website EUR-LEX, 2001]. Ook in dit geval gaf de Commissie geen toestemming. Voor zowel België als Duitsland gold dat aanpassingen voor het

bekomen van een strengere wetgeving enkel zijn toegestaan indien “*die gebaseerd zijn op nieuwe wetenschappelijke gegevens die verband houden met de bescherming van het milieu of het arbeidsmilieu vanwege een specifiek probleem dat zich in die lidstaat heeft aangediend*”. De Commissie oordeelde in beide gevallen dat de argumenten onvoldoende waren.

Nu ondertussen gebleken is dat de IMO een totale ban vanaf 2003 zal invoeren en er volgens de Europese richtlijnen een aanpassing van de wetgeving (rekening houdend met de acties van de IMO) moet komen voor 2003, lijkt dit Europees gekibbel een maat voor niks te zijn geweest aangezien de door België gevraagde verstrenging er sowieso op Europees vlak zal komen, zij het ietwat later...

Naast de wetgeving op het vlak van de aangroeiwerende verven bestaan er ook nog veel andere toepassingsdomeinen waar het organotengebruik gereguleerd is. Daarbij is de wetgeving op het vlak van bestrijdingsmiddelen voor landbouwkundig gebruik zeker het vermelden waard. Op nationaal vlak geldt dat enkel bestrijdingsmiddelen met een ‘erkenning’ mogen gebruikt worden. Deze erkenning kan verkregen worden wanneer een fabrikant van een bepaald bestrijdingsmiddel een uitgebreid dossier met onder andere fysische, chemische en toxicologische informatie indient bij het ‘Erkenningscomité voor de bestrijdingsmiddelen voor landbouwkundig gebruik’ (toebehorend aan het Ministerie van Middenstand en Landbouw). Enkel bestrijdingsmiddelen met een werkzame stof die op Europees vlak is toegestaan (Richtlijn 91/414) kunnen erkend worden in België. Dit dossier bevat voor een groot deel vertrouwelijke informatie die niet voor het publiek beschikbaar is. Een zoekopdracht in de database van de erkende gewasbeschermingsmiddelen [website ministerie van landbouw] leverde hits op voor vijf werkzame stoffen:

- | | | |
|--------------------|---|---|
| • AZOCYCLOTIN | ⇒ | 2 middelen erkend |
| | ⇒ | appel, peer, aardbei, rozen |
| • CYHEXATIN | ⇒ | 0 middelen erkend |
| • FENBUTATIN-OXIDE | ⇒ | 2 middelen erkend |
| | ⇒ | appel, peer, paprika, aubergine,
komkommer, augurk, meloen, sierteelt, |

- | | | |
|--------------------|---|--------------------------------|
| | | naaldbomen, buxus, laurier, es |
| • FENTIN-ACETAAT | ⇒ | 7 middelen erkend |
| | ⇒ | aardappelen |
| • FENTIN-HYDROXIDE | ⇒ | 13 middelen erkend |
| | ⇒ | aardappelen |

Voor cyhexatin is de erkenning waarschijnlijk vervallen en heeft geen enkele fabrikant een nieuwe erkenning aangevraagd. Bij de erkenningen horen ook instructies qua gebruik (tijdstippen, frequentie, hoeveelheid) en daarnaast zijn er ook maximum residugehaltes vastgelegd voor de werkzame stoffen.

b.v. 100 ng/g TPhT⁺ in aardappelen.

1.2.8 Speciatie van organotinverbindingen

1.2.8.1 Inleiding en definitie

In dit werk wordt de volgende definitie van 'speciatie' gebruikt:

Bepaling van de verschillende chemische vormen van een element in een monster.

Deze bepaling kan zowel kwalitatief als kwantitatief gebeuren.

Rekening houdend met de grote verschillen inzake fysische, chemische en toxicologische eigenschappen tussen de verschillende chemische vormen van tin, en zelfs binnen de familie van de organotinverbindingen, spreekt het voor zich dat een analyse van 'totaal tin' verre van volledige informatie verschaft. Speciatie-analyse laat niet enkel toe om een beeld te krijgen van de aanwezigheid en concentratie van de verschillende organotinverbindingen, maar kan ook ingeschakeld worden om afbraak (vaak tot andere organotinverbindingen) en onderlinge reacties te bestuderen. Naast speciatie van verbindingen van één soort metaal, laten bepaalde

technieken ook toe om simultaan speciatie van meerdere metalen uit te voeren. In dergelijke gevallen kan men bijvoorbeeld speciatie van organotin-, organokwik en organoloodverbindingen tegelijkertijd uitvoeren, wat natuurlijk een veelvoud aan informatie oplevert.

Hierna zal een historisch overzicht gegeven worden van de belangrijkste technieken die gebruikt werden/worden bij de bepaling van organotinverbindingen. Alhoewel de meeste technieken eerst werden toegepast op andere organometalen (met name organoloodspeciatie was heel populair) is er hier toch voor gekozen om een overzicht te geven vanuit de ontwikkelingen binnen de organotinspeciatie. Het is niet de bedoeling van dit overzicht om volledig te zijn, wel om de belangrijkste evoluties aan te halen. In dit hoofdstuk wordt ook enkel het instrumenteel aspect van de eigenlijke analyse behandeld. Monstervoorbereiding, met name derivatisatie en extractie, zal verder in dit werk, in de desbetreffende hoofdstukken, aan bod komen.

1.2.8.2 Overzicht van gebruikte technieken

Voor de speciatie van organotinverbindingen wordt vrijwel steeds gebruik gemaakt van 'hyphenated' technieken waarbij een chromatografisch systeem de scheiding uitvoert en de verbindingen op basis van hun metaalionen in functie van hun retentietijd gedetecteerd worden. Vaak kan de gebruikte detector geen onderscheid maken tussen de verschillende organometalen en is de techniek zonder de voorafgaande scheiding niet voor speciatiedoeleinden geschikt. Naast elementspecifieke detectoren worden soms ook klassieke chromatografische detectoren gebruikt.

Eind jaren '70, begin jaren '80, startte, door enkele technische evoluties in de analytische chemie, de opmars van de tinspeciatie. De eerste jaren maakten onderzoekers meestal gebruik van HPLC (high pressure/performance liquid chromatography) [Brinckman, 1977], [Koizumi, 1979], [Vickrey, 1980], [Burns, 1980] of GC (Gas Chromatography) [Burns, 1980], [Chau, 1982], [Maguire, 1983] gekoppeld aan grafietoven of vlam atomaire absorptie spectrometrie (AAS). Naast AAS werden ook nog andere detectoren gebruikt zoals vlamfotometrische detectie (FPD) [Kapila, 1980], [Jackson, 1982], [Maguire, 1981], [Olson, 1983], massa

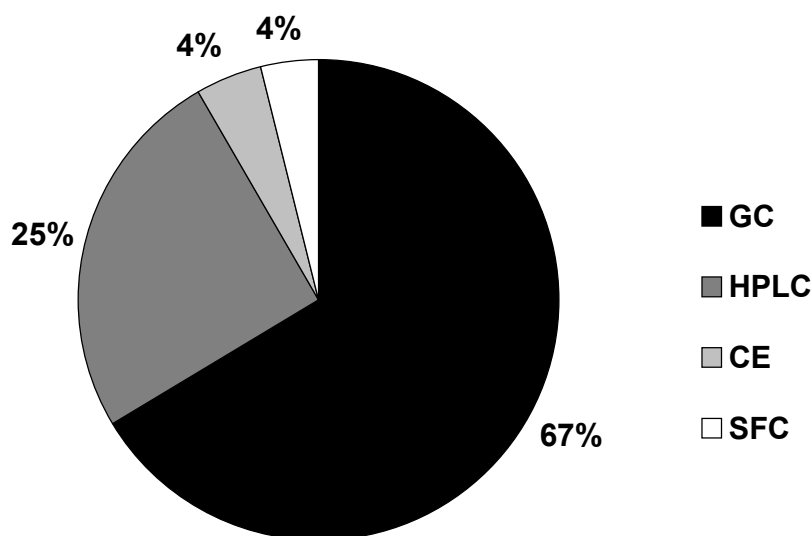
spectrometrie (MS) [Durbeck, 1974], [Meinema, 1978], brekingsindex detectie (RID) [Jessen, 1979], vlammionisatie detectie (FID) [Soderquist, 1978] en electron capture detectie (ECD) [Hattorri, 1984]. Mits voorafgaande reactie met een gepast reagens kon ook fluorometrische detectie gebruikt worden [Arakawa, 1983]. Een goed overzicht van de toestand van atoomspectroscopie gekoppeld aan GC en LC tot midden jaren '80 is te vinden in twee publicaties van Ebdon: [Ebdon, 1986] en [Ebdon, 1987].

Iets later begon men tinspeciatie uit te voeren met atomaire emissie detectoren (AES), met zowel het microgolf geïnduceerde plasma (MIP-AES) [Estes, 1982] [Lobinski, 1992], [Bulska, 1992], als het inductief gekoppeld plasma (ICP-AES) [Mazzucotelli, 1992] als emissiebronnen voor deze detectoren. Het voordeel van AES ten opzichte van AAS was dat de emissiedetectie veel eenvoudiger multi-elementmetingen toeliet. Ook ICP-massaspectrometrie (ICP-MS) [Suyani, 1989], maakte zijn introductie als elementspecifieke detector voor organotinspeciatie. Dit gebeurde in eerste instantie gekoppeld aan vloeistofchromatografie. Ebdon et al. waren echter de eersten om ICP-MS aan GC te koppelen voor organotinspeciatie [Kim, 1992], [Garcia Alonso, 1993].

Naast deze nieuwe detectoren, drongen ook twee nieuwe chromatografische systemen door tot de organotinspeciatie, met name capillaire elektroforese (CE) [Lui, 1993] en superkritische vloeistofchromatografie (SFC) [Shen, 1991], [Dachs, 1993].

Ondanks deze nieuwe systemen blijven GC en HPLC veruit de belangrijkste scheidingstechnieken in deze branche. Een gegeven dat ook blijkt uit het aantal hits dat bekomen werd met de zoekmachine van de 'Science Citation Index' van het Institute for Scientific Information. De resultaten van de afgelopen vijf jaar (1997-2001) zijn voorgesteld in figuur 1.16.

Alhoewel deze manier van opzoeken geen exact beeld geeft van het aantal onderzoeken dat gevoerd werd met een bepaalde techniek (overzichtsartikels, publicaties van één onderzoek in meerdere tijdschriften, niet-gepubliceerd onderzoek) geeft ze toch een duidelijke indicatie van het relatief belang van de verschillende systemen.



Figuur 1.16: Relatief aandeel van vier chromatografische systemen gebruikt bij de speciatie van organotinverbindingen gedurende de laatste vijf jaar.

In de jaren '90 werd ook tandem massaspectrometrie (MS-MS) geïntroduceerd bij de organotinspeciatie [Lawson, 1993], [Corr, 1997]. Alhoewel er geen chromatografisch systeem werd gekoppeld kan men de techniek op zich al als een 'hyphenated' systeem beschouwen. Feldmann gebruikte wel een koppeling met GC en complementeerde bovendien MS-MS met ICP-MS voor bijkomende informatie [Feldmann, 1998].

Een speciale vorm van speciatie die enigszins buiten het strikt analytische gebied ligt, is het gebruik van 'biomontoren'. Dit zijn levende organismen (dieren of planten) die op een typische manier reageren op de aanwezigheid van bepaalde stoffen. Het meest typische voorbeeld is de al eerder vermelde 'purperslak' die bij zeer lage concentraties aan TBuT imposex vertoont. In Ierland gebruikte Michin deze slak om een beeld te krijgen van de hoeveelheid TBuT in 'minder vervuilde gebieden', in gebieden met sterke organotinvervuiling was de purperslak al uitgestorven (wat wel een heel rudimentaire indicatie is van de toestand...) en gebruikte de onderzoeker de gewone alikruik, die minder gevoelig was, als indicator [Michin, 1997].

Biomontoren kunnen ook onrechtstreeks gebruikt worden. Door bepaling van het analiet 'in' het organisme kan men ook een beeld krijgen van graad van vervuiling en eventueel, rekening houdend met een gekende bioconcentratiefactor, de

concentratie in het leefmilieu van het organisme berekenen [Stäb, 1995], [Regoli, 2001].

In beide gevallen is er het voordeel dat er niet met momentopnamen gewerkt wordt en dat men ook een beeld krijgt van de fractie van de onderzochte stof die biologisch beschikbaar is. Anderzijds laat deze manier van werken enkel toe om een ruw beeld te krijgen van een concentratie in het milieu, kunnen verschillende factoren voor interferentie zorgen en is het 'dynamisch bereik' van deze methoden vaak beperkt (eens de concentratie boven de letale dosis...).

Tot slot willen we de lezer volgende opmerking van R. Lobinski betreffende speciatie niet onthouden:

The number of research papers on speciation has been truly impressive...unfortunately, the natural chain of questions "Speciation: Why? → What? → Where? → How?" leading to publication of research has been totally reversed. The momentum is coming from the manufactures of analytical instrumentation, who are looking for new markets. It is the availability of an expensive instrument (e.g., of an ICP-MS) that answers the first question, "Speciation: How?". The "What?" (analyte) is easy to find in a chemical reagents catalogue; fewer authors arrive at finding a "Where?" (sample), whereas hardly any paper on speciation published in an analytical chemistry journal really bothers about the question that should actually be fundamental, "Speciation: Why?"

1.3 Referenties hoofdstuk 1

• Amodo-Cocchieri, 2000	Amodio-Cocchieri R, Cirillo T, Amorena M, Cavaliere M, Lucisano A en Del Prete U, INT J FOOD SCI NUTR , 2000 , 51: (3), 147-151
• Amouroux, 2000	Amouroux D, Tessier E en Donard OFX, ENVIRON SCI TECHNOL, 2000 , 34: (6), 988-995
• Arakawa, 1983	Arakawa Y, Wada O en Manabe M, ANAL CHEM, 1983 , 55: (12), 1901-1904
• Arnold, 1997	Arnold CG, Weidenhaupt A, David MM, Muller SR, Haderlein SB en Schwarzenbach RP, ENVIRON SCI TECHNOL, 1997 , 31: (9), 2596-2602
• Ashby, 1988	Ashby JR en Craig PJ, SCI TOTAL ENVIRON, 1988 , 73(1-2), 127-133
• Bagarinao, 2000	Bagarinao T en Lantin-Olaguer I, HYDROBIOLOGIA, 2000 , 437: (1-3), 1-16
• Barreiro, 2001	Barreiro R, Gonzalez R, Quintela M en Ruiz JM, MAR ECOL-PROG SER, 2001 , 218, 203-212
• Bauer, 1997	Bauer B, Fioroni P, Schulte-Oehlmann U, Oehlmann J en Kalbfus W, ENVIRON POLLUT, 1997 , 96: (3), 299-309
• Biselli, 2000	Biselli S, Bester K, Huhnerfuss H en Fent K, MAR POLLUT BULL, 2000 , 40: (3), 233-243
• Brinckman, 1997	Brinckman FE, Blair WR, Jewett KL en Iverson WP, J CHROMATOGR SCI, 1977 , 15, 493-503
• Bulska, 1992	Bulska E, J ANAL ATOM SPECTROM, 1992 , 7: (2), 201-210
• Burns, 1980	Burns DT, Glockling F en Harriott M, J CHROMATOGR, 1980 , 200, 305-308
• Caricchia, 1994	Caricchia AM, Chiavarini S, Cremisini C, Morabito R en Scerbo R, ANAL CHIM ACTA, 1994 , 286, 329-334
• Ceulemans, 1993	Ceulemans M, Szpunarlobinska J, Dirkx WMR, Lobinski R en Adams FC, INT J ENVIRON AN CH, 1993 , 52: (1-4), 113-125
• Challenger, 1935	Challenger F en Higginbottom C, BIOCHEM J, 1935 , 29, 1757-1778
• Chau, 1982	Chau YK, Wong PTS en Bengert GA, ANAL CHEM, 1982 , 54: (2), 246-249
• Compano, 1994	Compano R, Granados M, Leal C, Prat MD, ANAL CHIM ACTA, 1994 , 302, 185-191
• Corr, 1997	Corr JJ, J ANAL ATOM SPECTROM, 1997 , 12: (5) 537-546
• Craig, 1986	Organometallic compounds in the environment, ed. Craig PJ, 1986 , Longman Group Limited, Leicester, UK., p 123
• CRC, 1991	CRC Handbook of Chemistry and Physics, ed. Lide D.R., 1991 , CRC Press Inc., Boston, VS
• Dachs, 1993	Dachs J en Bayona JM, J CHROMATOGR, 1993 , 636: (2), 277-283
• De Smaele, 1998	De Smaele T, Doctoraatsthesis, 1998 , Universiteit Gent
• De Wolf, 2001	De Wolf H, De Coen W, Backeljau T en Blust R, MAR ENVIRON RES, 2001 , 52: (3), 249-255
• Dirkx, 1993	Dirkx W, Lobinski R, Ceulemans M en Adams F, SCI TOTAL ENVIRON, 1993 , 136: (3), 279-300

•	Dizikes, 1978	Dizikes LJ, Ridley WP en Wood JM, J AM CHEM SOC, 1978 , 100: (3), 1010-1012
•	Donard, 1993	Donard OFX, Quevauviller P en Bruchet A, WATER RES, 1993 , 27: (6), 1085-1089
•	Dowson, 1992	Dowson PH, Bubb JM en Lester JN, MAR POLLUT BULL, 1992, 24: (10), 492-498
•	Dowson, 1993	Dowson PH, Bubb JM en Lester JN, APPL ORGANOMET CHEM, 1993 , 7: (8) 623-633
•	Dowson, 1996	Dowson PH, Bubb JM en Lester JN, ESTUAR COAST SHELF S, 1996 , 42: (5), 551-562
•	Durbeck, 1974	Durbeck HW en Buker I, Z KLIN CHEM KLIN BIO, 1974 , 12: (5), 224-224
•	Dyrynda, 1992	Dyrynda EA, MAR POLLUT BULL, 1992 , 24: (3), 156-163
•	Ebdon, 1985	Ebdon L, Hill SJ en Jones P, ANALYST, 1985 , 110: (5), 515-517
•	Ebdon, 1986	Ebdon L, Hill S en Ward RW, ANALYST, 1986 , 111: (10), 1113-1138
•	Ebdon, 1987	Ebdon L, Hill S en Ward RW, ANALYST, 1987 , 112: (1), 1-16
•	EPA, 1997	EPA ambient water quality criteria document for TBT, 1997
•	Errecalde, 1995	Errecalde O, Astruc M, Maury G en Pinel R, APPL ORGANOMET CHEM, 1995 , 9: (1), 23-28
•	Estes, 1982	Estes SA, Uden PC en Barnes RM, J CHROMATOGR, 1982 , 239, 181-189
•	Evans, 2001	Evans SM, Barnes N, Birchenough AC, Brancato MS en Hardman E, INVERTEBR REPROD DEV, 2001 , 39: (3), 221-229
•	Feldmann, 1998	Feldmann J, Koch I en Cullen WR, ANALYST, 1998 , 123: (5), 815-820
•	Fent, 1991, A	Fent K, NATURWISSENSCHAFTEN, 1991 , 78, 219-221
•	Fent, 1991, B	Fent K en Hunn J, ENVIRON SCI TECHNOL, 1991 , 25, 956-963
•	Fent, 1996	Fent K, SCI TOTAL ENVIRON, 1996 , 185: (1-3), 151-159
•	Fent, 1995	Fent K en Hunn J, ENVIRON TOXICOL CHEM, 1995 , 14: (7), 1123-1132
•	Foale, 1993	Foale S, MAR POLLUT BULL, 1993 , 26: (10), 546-552
•	Folsvik, 2000	Folsvik N, Brevik EM, en Berge JA, J ENVIRON MONITOR, 2000 , 2: (4), 281-284
•	Folsvik, 1999	Folsvik N, Berge JA, Brevik EM en Walday M, CHEMOSPHERE, 1999 , 38: (3), 681-691
•	Forsyth, 1992, A	Forsyth DS, Weber D en Barlow L, APPL ORGANOMET CHEM, 1992 , 6: (7) 579-585
•	Forsyth, 1992, B	Forsyth DS, Weber D en Cleroux C, FOOD ADDIT CONTAM, 1992 , 9: (2), 161-169
•	Forsyth, 1994	Forsyth DS, Sun WF en Dalglish K, FOOD ADDIT CONTAM, 1994, 11: (3), 343-350
•	Forsyth, 1997	Forsyth DS en Jay B, APPL ORGANOMET CHEM, 1997 , 11: (7) 551-558
•	Garcia Alonso, 1993	Garcia Alonso JI, Sanzmedel A, Ebdon L, ANAL CHIM ACTA, 1993 , 283: (1), 261-271
•	Gibbs, 1987	Gibbs PE, Bryan GW, Pascoe PL en Burt GR, J MAR BIOL ASSOC UK, 1987 , 66, 767-777.
•	Gomez Ariza, 1992	Gomez Ariza JL, Morales E en Ruizbenitez M, ANALYST, 1992 , 117: (3), 641-644
•	Gomez-Ariza, 2000	Gomez-Ariza JL, Giraldez I en Morales E, ENVIRON TOXICOL CHEM, 2000 , 19: (6) 1597-1606

•	Gomez-Ariza, 2001	Gomez-Ariza JL, Giraldez I en Morales E, WATER AIR SOIL POLL, 2001 , 126: (3-4) 253-270
•	Greenpeace persnota	http://www.greenpeace.org/pressreleases/toxics/2000may12.html en 2000may192.html
•	Hall, 1992	Hall LW, Unger MA, Ziegenfuss MC, Sullivan JA en Bushong SJ, ENVIRON MONIT ASSESS, 1992 , 22: (1), 15-38
•	Hallas, 1982	Hallas LE, Means JC en Cooney JJ, SCIENCE, 1982 , 215: (4539), 1505-1507
•	Hamasaki, 1991	Hamasaki T, Nagase H, Sato T, Kito H en Ose Y, APPL ORGANOMET CHEM, 1991 , 5: (2), 83-90
•	Harino, 1998	Harino H, Fukushima M, Yamamoto Y, Kawai S en Miyazaki N ENVIRON POLLUT, 1998 , 101: (2), 209-214
•	Harino, 2000	Harino H, Fukushima M en Kawai S, ARCH ENVIRON CON TOX, 2000 , 39: (1), 13-19
•	Hasan, 1992	Hasan MA en Juma HA, MAR POLLUT BULL, 1992 , 24: (8), 408-410
•	Hattori, 1984	Hattori Y, Kobayashi A, Takemoto S, Takami K, Kuge Y, Sugimae A en Nakamoto M, J CHROMATOGR, 1984 , 315, 341-349
•	Hiroaki, 1999	Hiroaki T, Ramaswamy BR, Quetel CR, Nakazato T, Tominaga M en Miyazaki A, ANAL CHEM, 1999 , 71, 4208-4215
•	Horiguchi, 1997	Horiguchi T, Shiraishi H, Shimizu M en Morita M, APPL ORGANOMET CHEM, 1997 , 11: (5), 451-455
•	Horiguchi, 2000	Horiguchi T, Takiguchi N, Cho HS, Kojima M, Kaya M, Shiraishi H, Morita M, Hirose H en Shimizu M, MAR ENVIRON RES, 2000 , 50: (1-5) 223-229
•	Huang, 1993	Huang GL, Bai ZP, Dai SG en Xie QL, APPL ORGANOMET CHEM, 1993 , 7: (6), 373-380
•	Huey, 1974	Huey C, Brinckman F E, Grim S en Iverson WP, 1974 , PROC INT CONF TRANSP PERSISTt CHEM AQUAT ECOS, Ottawa, VS, p73
•	IMO, 2001	http://www.imo.org
•	Jackson, 1982	Jackson J-A A, Blair WR, Brinckman FE en Iverson WP, ENVIRON SCI TECHNOL, 1982 , 16,110-119
•	Jessen, 1979	Jessen EB, Taugbol K en Greibrokk T, J CHROMATOGR, 1979 , 168: (1), 139-142
•	Jiang, 1999	Jiang GB, Xu FZ en Zhang FJ, FRESN J ANAL CHEM, 1999 , 363: (3), 256-260
•	Jiang, 2000	Jiang GB, Zhou QF, He B en Liu JY, SCI CHINA SER B, 2000 , 43: (5), 531-539
•	Kannan, 1995	Kannan K, Tanabe S en Tatsukawa R, CHEMOSPHERE, 1995 , 30: (5), 925-932
•	Kapila, 1980	Kapila S en Vogt CR, J CHROMATOGR SCI, 1980 ,18: (3), 144-147
•	Kim, 1992	Kim A, Hill S, Ebdon L en Rowland S, HRC-J HIGH RES CHROM, 1992 ,15: (10), 665-668
•	Koizumi, 1979	Koizumi H, McLaughlin RD en Hadeishi T, ANAL CHEM, 1979 ,51: (3), 387-392
•	Lawson, 1993	Lawson G en Ostah N, APPL ORGANOMET CHEM, 1993 , 7: (3), 183-191
•	Liu, 1993	Liu Y en Lopezavila V, HRC-J HIGH RES CHROM, 1993 , 16: (12), 717-720

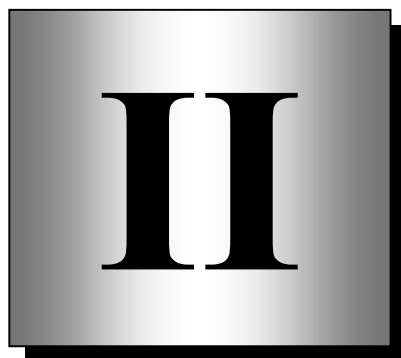
•	Lobinski, 1992	Lobinski R, Dirkx WMR, Ceulemans M en Adams FC, ANAL CHEM, 1992 , 64: (2) 159-165
•	Loch, 1990	Loch JPG, Greve PA en Vandenberg S, WATER AIR SOIL POLL, 1990 , 53: (1-2), 119-129
•	MaciasCarranza, 1997	MaciasCarranza VA, MaciasZamora JV en VillaescusaCelaya JA, CIENC MAR, 1997 , 23: (3), 377-394
•	Maguire, 1981	Maguire RJ en Huneault H, J CHROMATOGR, 1981 , 209: (3), 458-462
•	Maguire, 1983	Maguire RJ en Tkacz RJ, J CHROMATOGR, 1983 , 268: (1), 99-101
•	Maguire, 1986	Maguire RJ, Tkacz RJ, Chau YK, Bengert GA en Wong PTS, CHEMOSPHERE, 1986 , 15, 253-274
•	Makkar, 1990	Makkar NS en Cooney JJ, GEOMICROBIOL J, 1990 , 8: (2), 101-107
•	Mazzucotelli, 1992	Mazzucotelli A, Frache R, Magi E, Rivaró P en Gerbino T, ANN CHIM-ROME, 1992 , 82: (7-8), 379-384
•	Meinema, 1978	Meinema HA, Burgerwiersma T, Versluisdehaan G en Gevers EC, ENVIRON SCI TECHNOL, 1978 , 12: (3), 288-293
•	Michel, 1997, A	Michel P en Averty B, ANN I OCEANOGR PARIS, 1997 , 73: (1), 25-34
•	Michel, 1997, B	Michel P en Averty B, ENVIRON SCI TECHNOL, 1999 , 33: (15), 2524-2528
•	Michel, 1999	Michel P en Averty B, MAR POLLUT BULL, 1999 , 38: (4), 268-275
•	Minchin, 1997	Minchin D, Bauer B, Oehlmann J, SchulteOehlmann U en Duggan CB, MAR POLLUT BULL, 1997 , 34: (4), 235-243
•	Morcillo, 1997	Morcillo Y, Borghi V en Porte C, ARCH ENVIRON CON TOX, 1997 , 32: (2), 198-203
•	Morcillo, 1998	Morcillo Y en Porte C, TRAC-TREND ANAL CHEM, 1998 , 17 (2), 109-116
•	Morcillo, 1999	Morcillo Y, Albalat A en Porte C, ENVIRON TOXICOL CHEM, 1999 , 18: (6), 1203-1208
•	Morcillo, 2000	Morcillo Y en Porte C, ENVIRON POLLUT, 2000 , 107: (1) 47-52
•	Müller, 1987	Müller MD, ANAL CHEM, 1987 , 59, 617-623
•	Nagase, 1993	Nagase M en Hasebe K, ANAL SCI, 1993 , 9, 517-522
•	Nieuwsblad, 2001	Het Nieuwsblad, 07/09/ 2001 , p7
•	Oehlmann, 1998	Oehlmann J, Stroben E, Schulte-Oehlmann U en Bauer B, AQUAT TOXICOL, 1998 , 43: (4), 239-260
•	Olson, 1983	Olson GJ, Brinckman FE en Jackson JA, INT J ENVIRON AN CH, 1983 , 15: (4), 249-261
•	Regoli, 2001	Regoli L, Chan HM, de Lafontaine Y en Mikaelian I, AQUAT TOXICOL, 2001 , 53: (2), 115-126
•	Rilov, 2000	Rilov C, Gasith A, Evans SM en Benayahu Y, MAR ECOL-PROG SER, 2000 , 192, 229-238
•	Ritsema, 1997	Ritsema R, Doctoraats thesis, 1997 , Universite de Pau, Frankrijk
•	Ruiz, 1998	Ruiz JM, Quintela M en Barreiro R, MAR ECOL-PROG SER, 1998 , 164, 237-244
•	Sadiki, 1996, A	Sadiki AI en Williams DT, CHEMOSPHERE, 1996 , 32: (10), 1983-1992
•	Sadiki, 1996, B	Sadiki AI, Williams DT, Carrier R en Thomas B, CHEMOSPHERE, 1996 , 32: (12) 2389-2398

•	Schulte-Oehlmann, 2000	Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Markert B, Oehlmann J, Watermann B en Scherf S, ECOTOXICOLOGY, 2000 , 9: (6), 399-412
•	Shawky, 1998	Shawky S en Emons H, CHEMOSPHERE, 1998 , 36: (3), 523-535
•	Shen, 1991	Shen WL, Vela NP, Sheppard BS en Caruso JA, ANAL CHEM, 1991 , 63: (14) 1491-1496
•	Shim, 1999	Shim WJ, Oh JR, Kahng SH, Shim JH en Lee SH, ENVIRON POLLUT, 1999 , 106: (3), 351-357
•	Shim, 2000	Shim WJ, Kahng SH, Hong SH, Kim NS, Kim SK en Shim JH, MAR ENVIRON RES, 2000 , 49: (5), 435-451
•	Soderquist, 1978	Soderquist CJ, Crosby DG, ANAL CHEM, 1978, 50: (11), 1435-1439
•	Staatscourant, 2000	Staatscourant, 16 juni 2000 , nr114, p 18
•	Stäb, 1993	Stäb JA, Cofino WP, van Hattum B en Brinkman UAT, FRESN J ANAL CHEM, 1993 , 347, 247-255
•	Stäb, 1994	Stäb JA, Cofino WP, Vanhattum B en Brinkman UAT, ANAL CHIM ACTA, 1994 , 286: (3), 335-341
•	Stäb, 1995	Stäb JA, Frenay M, Freriks IL, Brinkman UAT en Cofino WP, ENVIRON TOXICOL CHEM, 1995 , 14: (12), 2023-2032
•	Stäb, 1996	Stäb JA, Traas TP, Stroomberg G, vanKesteren J, Leonards P, vanHattum B, Brinkman UAT en Cofino WP, ARCH ENVIRON CON TOX, 1996 , 31: (3), 319-328
•	Stasinakis, 2001	Stasinakis AS, Thomaidis NS en Lekkas TD, ECOTOX ENVIRON SAFE, 2001 , 49: (3), 275-280
•	Stewart, 1992	Stewart C, Demora SJ, Jones MRL en Miller MC, MAR POLLUT BULL, 1992 , 24: (4), 204-209
•	Strmac, 1999	Strmac M en Braunbeck T, ECOTOX ENVIRON SAFE, 1999 , 44: (1), 25-39
•	Stroben, 1992	Stroben E, Oehlmann J en Fioroni P, MAR BIOL, 1992 , 113: (4), 625-636
•	Sudaryanto, 2000	Sudaryanto A, Takahashi S, Tanabe S, Muchtar M en Razak H, WATER SCI TECHNOL, 2000 , 42: (7-8), 71-79
•	Suyani, 1989	Suyani H, Creed J, Davidson T en Caruso J, J CHROMATOGR SCI, 1989 , 27: (3) 139-143
•	Suzuki, 1998	Suzuki T, Yamamoto I, Yamada H, Kaniwa N, Kondo K en Murayama M, J AGR FOOD CHEM, 1998 , 46: (1), 304-313
•	Svavarsson, 2000	Svavarsson J, MAR POLLUT BULL, 2000 , 40: (11), 893-897
•	Tolosa, 1996	Tolosa I, Readman JW, Blaevoet A, Ghilini S, Bartocci J en Horvat M, MAR POLLUT BULL, 1996 , 32: (4), 335-341
•	Tolosa, 1996	Tolosa I en Readman JW, ANAL CHIM ACTA, 1996 , 335, 267-274
•	Vella, 2001	Vella AJ en Adami JPT, APPL ORGANOMET CHEM, 2001 , 15: (11), 901-906
•	Vernon, 1974	Vernon F, ANAL CHIM ACTA, 1974 , 71, 192-195
•	Vickrey, 1980	Vickrey TM, Howell HE, Harrison GV en Ramelow GJ, ANAL CHEM, 1980 , 52: (11), 1743-1746
•	VMM, 2001	Persnota Vlaamse Milieumaatschappij: Voorstelling jaarrapport "waterkwaliteit – lozingen in het water – 2000" , 6 september 2001 , Antwerpen (België)
•	website BASIC	http://www.basicweb.fsnet.co.uk/toxdataT.htm
•	website BgVV	http://www.bgvv.de/biozide/sonstige/files/tbt_in_windeln.pdf

•	website Cleanclothes	http://www.cleanclothes.org/news/00-01cccprep.htm
•	website Environment Australia	http://www.ea.gov.au/coasts/information/reports/somer/annex2/batley.html
•	website EUR-LEX, 1976	http://europa.eu.int/eur-lex/nl/lif/dat/1976/nl_376L0769.html
•	website EUR-LEX, 1989	http://europa.eu.int/eur-lex/nl/lif/dat/1989/nl_389L0677.html
•	website EUR-LEX, 1999	http://europa.eu.int/eur-lex/nl/lif/dat/1999/nl_399L0051.html
•	website EUR-LEX, 2000	http://europa.eu.int/eur-lex/nl/lif/dat/2000/nl_300D0509.html
•	website EUR-LEX, 2001	http://europa.eu.int/eur-lex/nl/lif/dat/2001/nl_301D0570.html
•	website Fedichem	http://www.periodieksysteem.com
•	website GBRMPA	http://www.gbrmpa.gov.au/corp_site/management/eim/sudbury/
•	website Hanser	http://www.hanser.de/leseprobe/2000/3-446-19579-3.pdf
•	website IPCS	http://www.inchem.org
•	website Mark Winter	http://www.webelements.com
•	website ministerie volksgezondheid	http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Nederlands/Advies/TRIBULTYLTINNI.htm
•	website ministerie van landbouw	http://www.fytoweb.fgov.be
•	website Nike	http://www.nikebiz.com/media/n_borussia.shtml
•	website Ortepa	http://www.ortepa.org
•	website Solvin PVC	http://www.solvinpvc.com/promotion/add.htm
•	website UCpress	http://www.ucpress.edu/books/pages/9577/pdf/Atlas.43-46.pdf
•	Weidenhaupt, 1997	Weidenhaupt A, Arnold C, Muller SR, Haderlein SB en Schwarzenbach RP, ENVIRON SCI TECHNOL, 1997 , 31: (9), 2603-2609
•	Wilken, 1994	Wilken RD, Kuballa J en Jantzen E, FRESN J ANAL CHEM, 1994 , 350, 77-84
•	Wilson, 1993	Wilson SP, Ahsanullah M en Thompson GB, MAR POLLUT BULL, 1993 , 26: (1), 44-48
•	Yamada, 1992	Yamada H en Takayanagi K, WATER RES, 1992 , 26: (12), 1589-1595
•	Yamada, 1997	Yamada H, Takayanagi K, Tateishi M, Tagata H en Ikeda K ENVIRON POLLUT, 1997 , 96: (2), 217-226
•	Yamanaka, 2000	Yamanaka M en Donard OFX, Agilent Technologies Application Note, Agilent Technologies, Inc., 2000 , http://www.chem.agilent.com
•	Yang, 2001	Yang F, Maguire RJ en Chau YK, WATER QUAL RES J CAN, 2001 , 36: (4), 805-814
•	Yen, 2001	Yen JH, Tsai CC, Su CC en Wang YS, ECOTOX ENVIRON SAFE, 2001 , 49: (2), 164-170

•	Yonezawa, 1994	Yonezawa Y, Fukui M, Yoshida T, Ochi A, Tanaka T, Noguti Y, Kowata T, Sato Y, Masunaga S, Urushigawa Y, CHEMOSPHERE, 1994 , 29: (6), 1349-1356
---	----------------	---

Hoofdstuk



INDUCTIEF GEKOPPELD PLASMA MASSASPECTROMETRIE (ICP-MS)

If at first you don't succeed, skydiving is not for you... (anonymus)

1.1 Inleiding

Inductief gekoppeld plasma (ICP) massaspectrometrie (MS) is een multi-element techniek met een brede waaier aan mogelijkheden. De hoge gevoeligheid, lage detectielimieten, eenvoudige spectra en het uitgebreid dynamisch bereik zijn typerend voor ICP-MS. Aangezien de ionenbron (het ICP) zich bij atmosferische druk bevindt, is een eenvoudige koppeling met tal van monsterintroductiesystemen mogelijk. In de meest gebruikte opstelling wordt een te analyseren vloeistof continu verstoven en naar het plasma gevoerd. ICP-MS kan ook gekoppeld worden aan technieken voor introductie van vaste monsters zoals bijvoorbeeld elektrothermische vervluchtiging (ETV) en laser ablatie (LA). Daarnaast wordt ICP-MS ook regelmatig gebruikt als detector voor chromatografische systemen zoals vloeistofchromatografie (LC), gaschromatografie (GC) en capillaire elektroforese (CE).

ICP-MS werd in dit werk gebruikt als detector voor GC-analyse van organotinverbindingen. Het overgrote deel van de tijd werd geen gebruik gemaakt van de multi-element capaciteiten van ICP-MS en werd de techniek aangewend als 'Sn-detector'. Enkel bij de optimalisatie en bij de analyse van lucht werden ook de signalen van andere elementen geregistreerd en in dit laatste geval werd ICP-MS dus als een 'oligo-element' detector gebruikt. Aangezien het meest gebruikte type van massaspectrometer, een quadrupoolfilter, het meten van meerdere elementen (eigenlijk 'massa op lading' verhoudingen) slechts 'quasi-simultaan' kan uitvoeren, zijn er beperkingen voor het registreren van transiënte signalen. Dit soort signalen zijn typerend voor chromatografie en vele vormen van 'solid sampling'. De beperkingen van een quadrupoolfilter en de manier om er mee om te gaan zal in Hoofdstuk 5 aan bod komen.

In dit hoofdstuk zal een korte algemene introductie over ICP-MS gegeven worden. De quadrupoolfilter en de time-of-flight massaspectrometers zullen apart besproken worden. Hoewel dit laatste type uiteindelijk niet gebruikt werd in dit werk, waren de resultaten die aan bod komen in Hoofdstuk 5 oorspronkelijk opgevat in het kader van een confrontatie 'quadrupool vs. time-of-flight analyzer'. Tot slot zullen de twee ICP-

MS toestellen die in dit werk gebruikt werden, worden toegelicht. Aangezien ICP-MS in dit werk louter als middel werd beschouwd en niet als doel, zal de bespreking van deze techniek relatief oppervlakkig gehouden worden. Voor meer fundamentele informatie wordt naar de literatuur verwezen [Montaser, 1998], [Hill, 1999].

1.2 ICP-MS: algemeen

1.2.1 Historiek

1891: 1^e rapport over een ICP [Hittorf, 1891]

1961: dynamisch ICP (=plasma in gasstroom) [Reed, 1961]

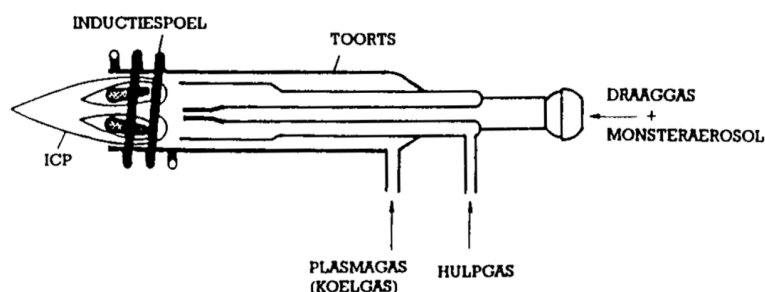
1964: ICP als excitatiebron bij atomaire emissie (AE) [Greenfield, 1964]

1966: ICP als atomisatiesysteem bij atomaire absorptie (AA) [Wendt, 1966]

1980: ICP als ionenbron voor MS [Houk, 1980]

1.2.2 Standaardconfiguratie

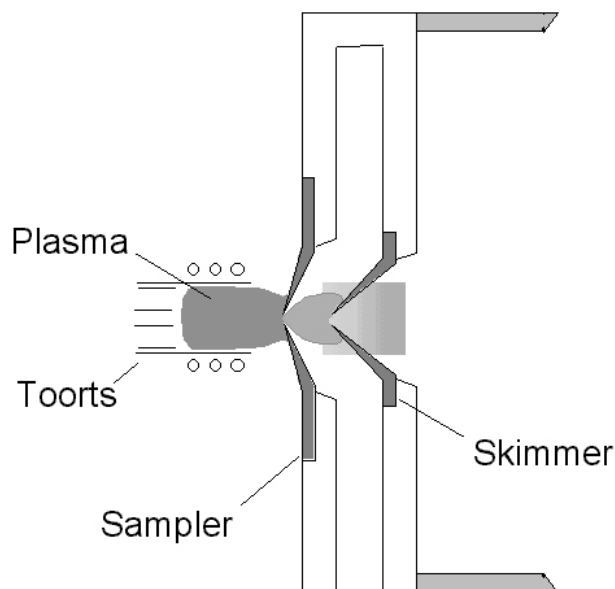
In de standaardconfiguratie wordt ICP-MS gebruikt om diverse elementen (vooral metalen) in waterige oplossingen te bepalen. Hierbij wordt de oplossing door middel van een peristaltische pomp naar een verstuiver gebracht. De *verstuiver*, meestal van het Meinhard-type, zorgt ervoor dat de vloeistof wordt omgezet in een aërosol. Door gebruik te maken van een *verstuiverkamer* (vaak van het double-pass Scott-type) wordt vermeden dat te grote druppels het plasma bereiken. Kleine druppels



Figuur 2.1: Het plasma wordt opgewekt aan het uiteinde van de toort.

zorgen voor efficiënte atomisatie en ionisatie, grote druppels kunnen daarentegen het plasma destabiliseren. Het plasma, dat men als een zeer hete elektrische vlam (ca. 7500 K) kan beschouwen, wordt in een gasstroom (meestal

Ar) opgewekt door het sturen van een hoogfrequente (MHz) wisselstroom door een inductiespoel, geplaatst aan het uiteinde van een *toorts* (zie figuur 2.1). In het plasma, dat bestaat uit moleculen, atomen, ionen en elektronen, treedt er als gevolg van de hoge temperatuur desolvatie, atomisatie, excitatie en ionisatie op. Een moeilijkheid bij ICP-MS is dat de ionenbron werkt bij atmosferische druk terwijl de massaspectrometer bij een druk



Figuur 2.2: De interface zorgt voor de overgang van atmosferische druk naar hoog vacuüm.

van vaak minder dan 10^{-8} bar werkt. Om de twee eenheden te koppelen maakt men gebruik van een *interface*. Hierbij worden twee watergekoelde kegels (cones), met een kleine opening in het midden, na elkaar geplaatst. De twee cones en de ruimte ertussen worden de interface genoemd (figuur 2.2). Een deel van het plasma stroomt door de opening van de eerste kegel (sampler) en ondergaat supersonische expansie. In de interface wordt het grootste deel van het gas verwijderd door een vacuümpomp. Na de eerste kegel is de druk al gezakt tot enkele mbar. De fractie die minder dan een centimeter verder door de opening van de tweede kegel (skimmer) raakt, bestaat uit ionen, elektronen en neutrale deeltjes. Na de skimmer bevindt zich het tweede, permanente, vacuümstadium. Vaak wordt dit gebied ook nog opgesplitst in een vacuümzone met de lenzen en een met quadrupoolfilter en detector. Om dit 'hoog vacuüm' te kunnen afsluiten wanneer het toestel niet in gebruik is, bevindt er zich na de skimmer een 'slide valve'. Een negatief geladen *extractielens* trekt de positieve ionen aan en voert ze naar de daaropvolgende set van elektrostatische lenzen. Die zorgen ervoor dat de ionenbundel gefocusseerd wordt voor het binnentreden van de massaspectrometer. In de meeste toestellen beschrijven de ionen in dit lenzenstelsel een niet-rechthoekige baan. Een afwijking van een rechthoekig pad zorgt er namelijk voor dat fotonen de detector niet kunnen bereiken, waardoor een lagere instrumentele achtergrond bekomen wordt. De ionen die uiteindelijk de massaspectrometer bereiken, worden gescheiden op basis van hun verhouding

'massa op lading'. Het type massaspectrometer bepaalt hoe dit gebeurt en speelt ook de belangrijkste rol voor de karakteristieken van het toestel (zie 1.2.3). De geselecteerde ionen worden vervolgens gedetecteerd door een 'electron multiplier'. Een invallend ion of foton geeft hierbij aanleiding tot één of meerdere elektronen die op hun beurt andere elektronen losslaan (bij de gebruikte detector kan één ion aanleiding geven tot 10^7 à 10^8 elektronen). De elektronenpulsen worden uiteindelijk geregistreerd met een collectorelektrode en de signalen worden verder doorgestuurd naar een PC. Met behulp van speciale software kunnen de ruwe gegevens verwerkt worden.

1.2.3 Massaspectrometers

1.2.3.1 Quadrupoolfilter

Een quadrupoolfilter MS bestaat uit vier evenwijdige, cilindervormige, elektrisch geleidende staven (zie figuur 2.3). De staven die zich diametraal tegenover elkaar bevinden, staan op dezelfde potentiaal en vormen zo een elektrodepaar. De potentiaal van een paar bestaat uit een gelijkspanningspotentiaal U en een

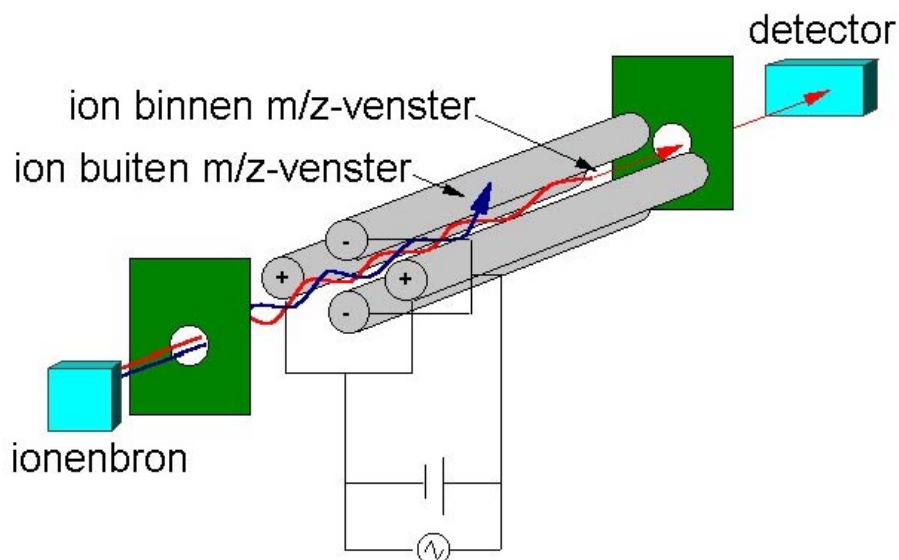


Figuur 2.3: Een quadrupoolfilter.

wisselspanningspotentiaal $V\cos\omega t$. Terwijl één paar op een potentiaal $(U+V\cos\omega t)$ staat, staat het andere paar op een gelijke, doch tegengestelde potentiaal $-(U + V\cos\omega t)$. Dit systeem zorgt ervoor dat enkel ionen binnen een nauw m/z (massa op lading)-venster worden doorgelaten. Het systeem

gedraagt zich dus als een massafilter. Door de spanning op de staven te variëren, waarbij men de verhouding U/V constant houdt, krijgt men een massascan waarbij het m/z -venster over het volledige massabereik wordt verschoven. Het feit dat enkel ionen met een bepaalde m/z op een bepaald moment door het systeem komen, is te wijten aan het gecombineerd effect van de twee paren staven. Wanneer één paar

staven enkel ionen met een m/z groter dan een kritische waarde doorlaat, laat het ander paar enkel ionen met een m/z kleiner dan een bepaalde waarde door.



Figuur 2.4: Schematische voorstelling van een quadrupool massaspectrometer.

Aangezien er maar één m/z verhouding tegelijkertijd kan gemeten worden, is het aantal ionen dat in een kort transiënt signaal kan gemeten worden, beperkt (zie Hoofdstuk 5). Voor- en nadelen van een quadrupoolfilter zijn samengevat in tabel 2.1.

Tabel 2.1: Voor- en nadelen van een quadrupool massaspectrometer.

Quadrupoolfilter	
+	-
<ul style="list-style-type: none"> • Relatief goedkoop • Robuust • Eenvoudige bediening • Relatief snel scannen • Tolerantie t.o.v. spreiding van E_{kin} 	<ul style="list-style-type: none"> • Lage resolutie (ongeveer 1 u) • Sequentieel scannen • Beperkte precisie voor isotopenverhoudingen

1.2.3.2 Time-of-flight analyzer

Time-of-flight (TOF) MS werd vrij recent door Hieftje et al. geïntroduceerd in de wereld van ICP-MS [Myers, 1993]. Qua principe is het een heel eenvoudige techniek

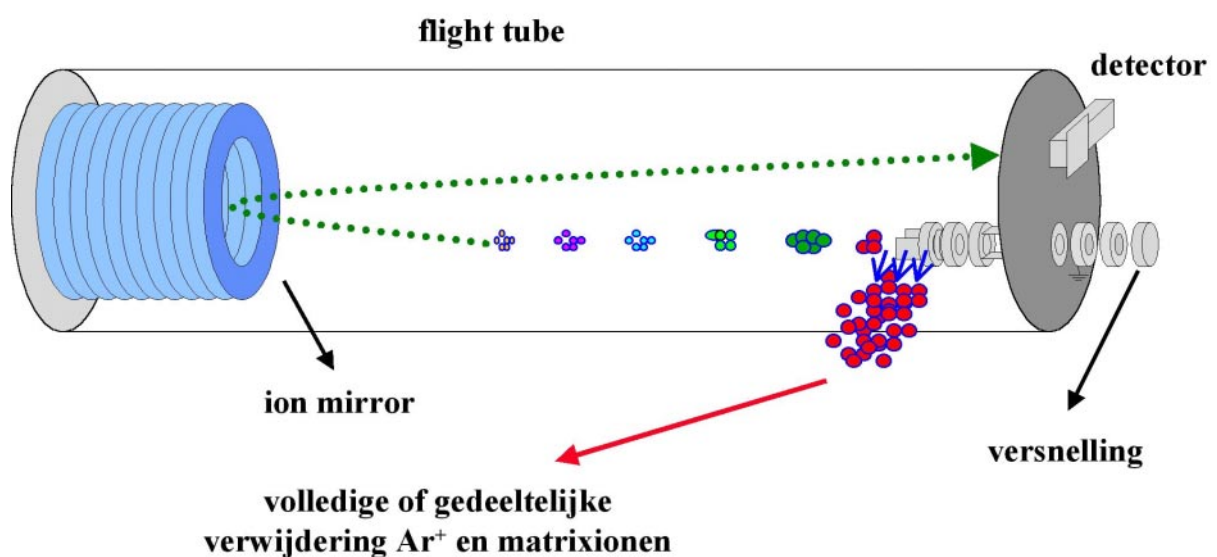
waarbij ionen zich na versnelling door een lege buis (flight tube) van ionenbron naar detector verplaatsen. De werking van dit soort massafilter steunt op het feit dat ionen met gelijke kinetische energie (E_{kin}) met verschillende snelheden (v) zullen bewegen naargelang hun massa (m). Dit volgt uit een van de meest fundamentele vergelijkingen uit de fysica, waaruit tevens valt af te leiden dat ionen met een kleine massa een grotere snelheid zullen hebben:

$$E_{\text{kin}} = \frac{1}{2} mv^2$$

In moderne TOF-massaspectrometers worden ionen versneld tot energieën in de orde van kiloëlektronvolt (keV). De kinetische energie van een ion met lading q ($=z.e$), versneld over een potentiaalverschil ΔV bedraagt:

$$E_{\text{kin}} = ze\Delta V \quad (e = 1.6022 \times 10^{-19} \text{ C})$$

De detector die zich op een welbepaalde afstand van de ionenbron bevindt, zal van een groep ionen (mits ze een gelijke lading hebben) eerst de lichtste (= snelste) ionen registreren. In functie van de verstreken tijd zullen steeds zwaardere ionen de detector bereiken. De selectie gebeurt bij dit soort toestel dus niet zozeer in de



Figuur 2.5: Schematische voorstelling van een TOF MS.

ruimte maar wel in de tijd. Typische 'vluchttijden' zijn in de orde van microseconden en de verschillen tussen ionen met verschillende massa zijn in de orde van nanoseconden. In de praktijk zijn er echter verschillende afwijkingen op het theoretisch gedrag. Zo kunnen ionen in éénzelfde pakket, voor ze versneld worden, al verschillende kinetische energieën hebben. Het gevolg hiervan is dat ionen met dezelfde massa en lading toch niet op hetzelfde moment de detector zouden bereiken, waardoor de resolutie beperkt wordt. Bij de meeste toestellen wordt dit opgelost door de ionenbundel bijna 180° te keren in het midden van de af te leggen weg. Hiervoor gebruikt men een elektrostatisch veld (ion mirror). Ionen met hogere initiële kinetische energie zullen een tragere afbuiging kennen -ze nemen als het ware de buitenbocht- waardoor ionen met een lagere initiële kinetische energie hun soortgenoten kunnen inhalen. Na optimalisatie van diverse parameters kan men er voor zorgen dat dit verschil in afbuiging het verschil in initiële kinetische energie compenseert. Aangezien het grootste deel van de ionenbundel uit Ar- en matrixionen bestaat, die onder andere de detector kunnen overbelasten, worden ze meestal uit de bundel verwijderd. Deze aspecten zijn ook schematisch voorgesteld in figuur 2.5.

Door het werkingsprincipe van dit soort toestel en het feit dat het ICP een continue bron van ionen is, moet de ionenbundel tot pulsvormige ionenpakketten worden gemoduleerd. Hoewel de ionen, strikt genomen, niet op hetzelfde tijdstip gemeten worden, beschouwt men TOF MS toch als een 'echte' multi-element techniek aangezien TOF MS toelaat om voor elk pakket een volledig massaspectrum op te nemen. De huidige toestellen zijn in staat om meer dan 10000 spectra per seconde te registreren, waardoor een gigantische datahoeveelheid verkregen wordt. De aard van deze techniek vergt enorm veel van elektronica en software en de evoluties in TOF MS zijn bijgevolg nauw verbonden met de ontwikkelingen op die vlakken.

De voor- en nadelen van een TOF MS bij ICP-MS zijn voorgesteld in tabel 2.2. Een van de grote voordelen van TOF MS voor de organische massaspectrometrie, het grote massabereik, levert voor ICP-MS weinig meerwaarde op. Ook het feit dat de detectielimieten nog niet van dezelfde orde zijn als bij de quadrupoolfilter, staat de grote doorbraak van dit soort MS voor anorganische analyse nog in de weg. Het 'simultaan' meten van alle ionen levert echter ontegensprekelijk een voordeel op wanneer men zeer veel elementen tijdens een kort transiënt signaal wil bepalen (b.v.

bij 'single shot' LA). Of dit voor reële toepassing van gaschromatografie al dan niet voordelen biedt ten opzichte van een quadropoolfilter, zal in Hoofdstuk 5 aan bod komen.

Tabel 2.2: Voor- en nadelen van een TOF massaspectrometer.

time - of - flight	
+	-
<ul style="list-style-type: none">• Eenvoudig principe• Multi-element karakteristieken• Betere isotopenverhoudingen dan voor quadropoolfilter	<ul style="list-style-type: none">• Grote datahoeveelheden• Pulse mode• Hogere detectielimieten dan quadropoolfilter• Lage resolutie

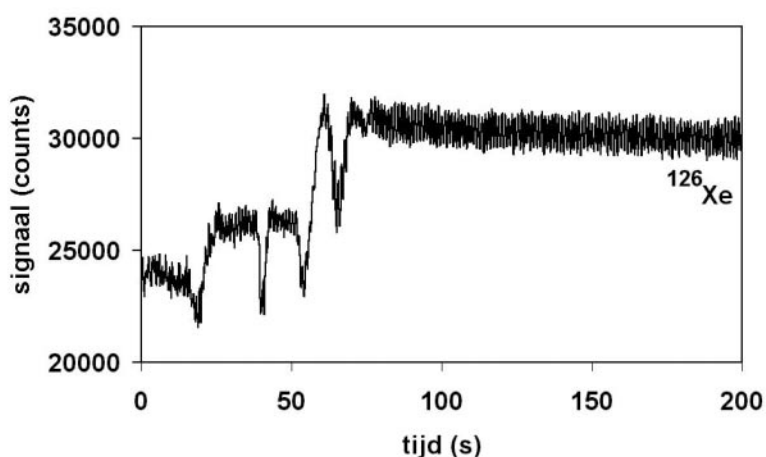
Noot: Naast quadropool en TOF massaspectrometers worden ook regelmatig sector veld massaspectrometers gebruikt bij ICP-MS. Aangezien dergelijk toestel in dit werk niet gebruikt werd en er ook niet echt specifieke voordelen zijn voor de bepaling van organotinverbindingen, zal dit type massaspectrometer hier niet behandeld worden. Voor meer informatie over dit soort toestel en zijn toepassingen wordt verwezen naar andere recente proefschriften [Riondato, 2000] en [De Wannemacker, 2001].

1.2.4 Optimalisatie

De optimalisatie van een ICP-MS instrument is relatief eenvoudig wanneer men beschikt over een constant signaal. Dit laat namelijk toe om voor elke wijziging vrijwel onmiddellijk het effect te evalueren. In de praktijk wordt er meestal een standaardoplossing verstoven die het te bepalen element (analiet) bevat. Hierdoor kan men gasdebiet, plasma, lenzen enz. optimaal afstellen voor dat analiet. Een ICP-MS instrument optimaliseren met behulp van een transiënt signaal -zoals dat bij GC verkregen wordt- is onbegonnen werk. Het toestel afstellen met behulp van pneumatische verstuiving en een Sn-standaard is één mogelijkheid, maar werd om twee redenen niet toegepast. Ten eerste omdat het een vrij omslachtige procedure zou zijn: ICP-MS koppelen met een gewone verstuiver, laten stabiliseren, optimaliseren, verstuiver ontkoppelen, GC koppelen en terug laten stabiliseren. Ten

tweede omdat de omstandigheden in een 'droog' plasma verschillen van die in een 'nat' plasma (waarin continu een waterige oplossing wordt verstoven). De optimale waarde voor een parameter zoals draaggasdebiet, zal aanzienlijk verschillen tussen een droog en een nat plasma. Aangezien een droog plasma energierijker is zullen elementen minder lang in het plasma moeten verblijven om maximale ionisatie te verkrijgen (M^+ -zone). Het optimale draaggasdebiet, vereist voor een optimale positie van de M^+ -zone ten opzichte van de sampling cone, zal bij een droog plasma daarom hoger liggen dan bij een nat plasma. Dit bleek ook uit onderzoek met ETV-ICP-MS waarbij ook een droog plasma gebruikt wordt [Boonen, 1996].

Om deze redenen werd er in dit werk, evenals in een vorig onderzoek in hetzelfde laboratorium, gebruik gemaakt van een constant Xe-sig-naal (zie figuur 2.6) [De Smaele, 1998]. Het edelgas heeft het grote voordeel dat het eenvoudig aan het GC-draaggas (H_2 of He) kan



Figuur 2.6: Optimalisatie van de toortspositie op basis van een constant Xe-sig-naal.

worden toegevoegd. Door het dezelfde weg als de te bepalen verbindingen te laten afleggen, kan men er van uitgaan dat het op dezelfde plaats het plasma binnentreedt. Uit de literatuur blijkt dat elementen zich meer analoog in het plasma gedragen naarmate hun massa's dichter bij elkaar liggen [Vanhaecke, 1992]. Aan deze voorwaarde is dus zeker voldaan. Omdat het Xe in relatief hoge concentratie werd toegevoegd (0,1 of 1 %), werd de minst abundante isotoop (^{126}Xe , 0,09%) gebruikt om de detector te beschermen. Uit het werk van De Smaele blijkt dat het signaal/draaggasverloop van het ^{126}Xe -sig-naal een grote analogie vertoonde met dat van organotinverbindingen. Op basis van deze theoretische en praktische gegevens werd besloten om de plasmaparameters (draaggasdebiet, vermogen, toortspositie) te optimaliseren aan de hand van het Xe-sig-naal. Ook andere onderzoekers namen deze methode over bij de optimalisatie van GC-ICP-MS voor de bepaling van organotinverbindingen [Yamanaka, 2000] en organokwikverbindingen [Tao, 1998].

Naast het gebruik van Xe werden ook nog andere technieken voor optimalisatie toegepast. Bij een van de eerste GC-ICP-MS combinaties voegde Kim Hg-damp toe aan de draaggasstroom om een constant signaal te bekomen waarmee hij het ICP-MS apparaat kon tunen [Kim, 1992]. Een andere methode die Sanz-Medel et al. toepasten is gebaseerd op het signaal van $^{40}\text{Ar}_2^+$ om draaggas en toortspositie te optimaliseren [Ruiz Encinar, 2000]. Uit hun onderzoek bleek tevens het verschil tussen droog en nat plasma. Zo vonden ze een sterke afwijking inzake optimale lensparameters, een gegeven dat ook in dit werk werd vastgesteld. Feldmann gebruikte net voor de toorts een T-stuk waar effluent van de GC en een aërosol met 10 µg/L indium als inwendige standaard werden samengevoegd. Dit heeft natuurlijk wel tot gevolg dat het plasma niet langer 'droog' is [Feldmann, 2001].

Een bijkomend voordeel van het toevoegen van Xe aan het GC-draaggas is dat problemen met GC of transfercapillair eenvoudiger kunnen vastgesteld worden. Men kan dus stellen dat het Xe-signaal ook een diagnostische functie heeft.

1.2.5 Interferenties

1.2.5.1 Oorzaak en gevolg

Een ICP is, ondanks de vele voordelen, geen perfecte ionenbron. 'Enkel' geladen ($z=1$) analietionen zijn gewenst, maar daarnaast ontstaan er in of na het plasma ook polyatomische ionen, 'dubbel' geladen ($z=2$) ionen, ionen afkomstig van de matrix en Ar-ionen van het plasmagas. Wanneer de nominale m/z -verhouding van deze species samenvalt met die van een analiet-ion kan een quadrupool MS geen onderscheid maken en spreekt men van een 'spectrale interferentie'. Een van de meest typische voorbeelden is de interferentie van $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ op $^{56}\text{Fe}^+$. Door de grote abundantie van Ar en O in het plasma zijn het vooral argiden en oxiden die voor de meeste interferenties zorgen. De meeste elementen vormen echter slechts voor een kleine fractie polyatomische ionen (b.v. de verhouding MO^+/M^+ is meestal $<1\%$). Hierdoor zullen spectrale interferenties pas aanleiding geven tot aanzienlijke fouten wanneer het analiet in veel lagere concentratie aanwezig is dan de atomen die mogelijk tot de interferentie aanleiding geven. In de praktijk zijn het daarom vooral

matrixelementen die voor problemen kunnen zorgen. In tabel 2.3 zijn mogelijke spectrale interferenties voor ^{118}Sn en ^{120}Sn weergegeven.

Bij gebruik van GC als monsterinleidingsysteem spelen spectrale interferenties meestal een verwaarloosbare rol omdat er met een 'droog plasma' (geen continue introductie van aerosol) wordt gewerkt. Hierdoor is de vorming van oxiden beperkt. De monstervoorbereiding en de chromatografische scheiding zorgen er bovendien voor dat de te bepalen verbindingen gescheiden worden van de matrix en dus 'alleen' in het plasma terecht komen. Spectrale interferentie door species op basis van matrizelementen is dus uitgesloten. De enige interferentie die, voor zover ons bekend, mogelijk voor spectrale interferentie op Sn zou kunnen zorgen is ArSe^+ . Een vluchtige organoseleenverbinding met exact dezelfde retentietijd als een van de te bepalen organotinverbindingen, zou, in geval dat haar concentratie ook beduidend hoger is dan die van de organotinverbinding, voor spectrale interferentie kunnen zorgen. De kans dat dit gebeurt is voor de meeste monsters echter zeer klein. De aanwezigheid van spectrale interferentie kan voor de meeste elementen gecontroleerd worden door de isotopische samenstelling te bepalen. Een afwijking is meestal een indicatie van spectrale overlap.

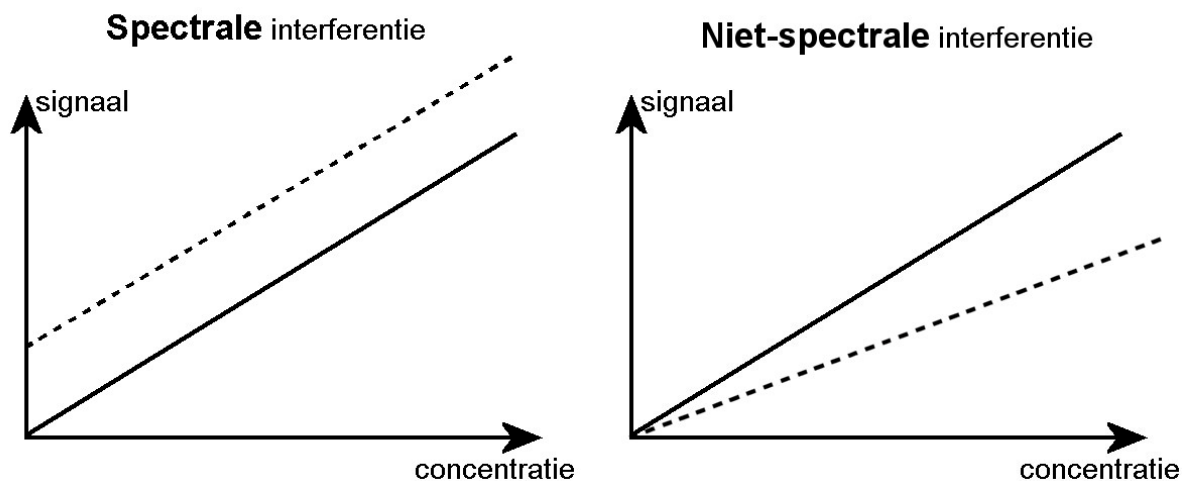
Tabel 2.3: Enkele species die spectraal kunnen interfereren met de meest abundante isotopen van Sn, de abundanties van de storende isotopen staan tussen de haakjes.

Soort	^{118}Sn	^{120}Sn
Element	/	Te (0,096%)
Oxide	MoO (0,019%) RuO (31,556%) PdO (1,019%)	RuO (18,719%) RhO (0,038%) PdO (11,127%)
Dimeer	CoCo (100%) NiNi (35,704%)	NiNi (11,824%)
Hydride	SnH (7,681%)	SnH (8,592%)
Argide	ArSe (23,746%) ArKr(0,389%)	ArSe (49,417%) ArKr(2,440%)

Chloride	BrCl (11,948%) KrCl (8,714%)	KrCl(2,786%) RbCl (54,679%)
----------	---------------------------------	--------------------------------

[ICP-MS Data Base, 1995]

Naast spectrale interferentie, die bij een specifieke m/z -verhouding problemen veroorzaakt, is er ook 'niet-spectrale' interferentie bij ICP-MS. Dit type interferentie beïnvloedt de respons van het toestel over het hele massagebied en de mate waarin dit gebeurt, is bovendien vaak afhankelijk van de massa (lichtere elementen ondervinden meestal meer invloed dan zwaardere). Niet-spectrale interferentie is een complex gegeven dat meestal te maken heeft met een verandering van de fysische toestand van het plasma en/of het verloop van het ionisatieproces en/of de extractie van de gevormde ionen. Deze beïnvloeding wordt vrijwel steeds veroorzaakt door een component die in relatief grote hoeveelheid in het plasma gebracht wordt. In tegenstelling tot spectrale interferentie is het niet de relatieve hoeveelheid van de storende component, maar de absolute hoeveelheid die de grootte van het effect bepaalt.



Figuur 2.7: Beïnvloeding van de calibratierechte door spectrale en niet-spectrale interferentie.

Het effect van spectrale en niet-spectrale interferentie is ook duidelijk te observeren aan de hand van een kalibratierechte (zie figuur 2.7). Spectrale interferentie zorgt voor een stijging van de rechte parallel met de Y-as, terwijl niet-spectrale interferentie voor een verandering van de helling van de rechte zorgt (meestal verkleint de richtingscoëfficiënt).

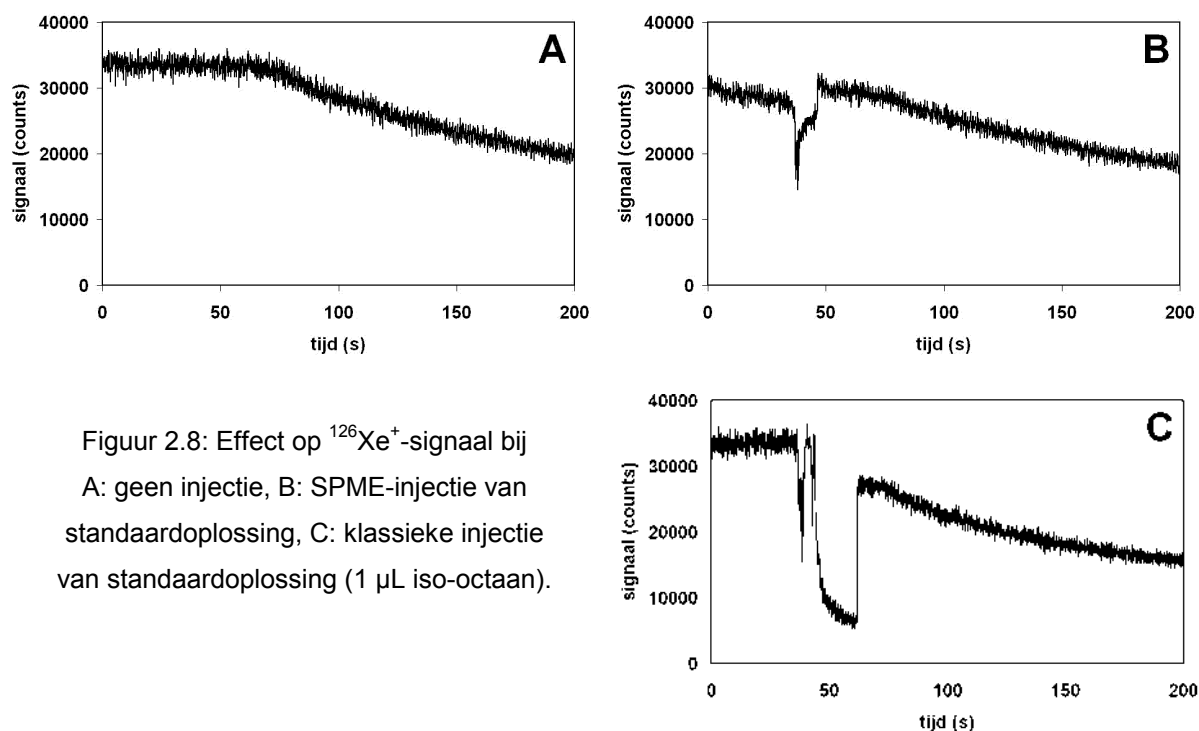
Enigszins los van deze ‘echte’ interferenties, kunnen instrumentele fluctuaties eveneens het signaal (en de stabiliteit ervan) beïnvloeden. Op analytisch vlak kan men deze instabiliteiten meestal als niet-spectrale interferenties beschouwen.

Aangezien bij GC-ICP-MS de te bepalen componenten gescheiden van de matrix het plasma bereiken, treden ‘echte’ niet-spectrale interferenties waarschijnlijk nauwelijks op. Verbindingen die gelijk met het solvent het plasma bereiken zouden wel invloed kunnen ondervinden van de plotse toevoer van een relatief grote hoeveelheid koolstofatomen. Dit kan problemen opleveren als de interferentie niet reproduceerbaar is -wanneer er bijvoorbeeld een verschil in invloed zou zijn bij standaard en monster-, of wanneer men een meting, waarbij gebruik werd gemaakt van een solvent, wil vergelijken met een meting waarbij géén solvent gebruikt werd. Dit laatste geval zou bijvoorbeeld kunnen optreden wanneer een standaardoplossing in iso-octaan vergeleken wordt met een monster van een solid phase microextraction (SPME).

Het feit dat een grote hoeveelheid koolstof een drastische invloed heeft op het plasma is reeds lang bekend en werd onlangs voor GC-ICP-MS bevestigd door Feldmann et al. [Feldmann, 2001]. Deze onderzoekers probeerden organometalen in gassen te bepalen door ze te vangen in een cryogene trap. Daarna werden ze met GC-ICP-MS gescheiden en gedetecteerd. Uit hun werk blijkt dat water en vooral CO₂ vooraf dienen verwijderd te worden. Ze gebruikten hiervoor een cartridge met NaOH. Zonder dit NaOH blijken noch kwalitatieve, noch kwantitatieve bepaling mogelijk gedurende de eerste 150 seconden van het chromatogram. Ook stelden ze daarbij een drastische daling vast (bijna tot op de basislijn) van het signaal van de continue inwendige standaard. Dit fenomeen schreven ze toe aan het verschuiven van de ionisatiezone.

Het feit dat Feldmann niet met een droog plasma werkte zal zeker een invloed op het gedrag van het plasma gehad hebben. Maar toch werd een vergelijkbaar fenomeen ook in dit werk waargenomen. In figuur 2.8 zijn enkele profielen van het Xe-sigitaal voorgesteld die bekomen werden zonder injectie, met SPME en met een klassieke injectie (1 µL iso-octaan als solvent). Daarbij is duidelijk te zien dat gewone injectie -

met solvent- de grootste verstoring veroorzaakt. De eerste 'dip' in signaalprofiel C is waarschijnlijk afkomstig van EtOH uit de stockoplossing van de gebruikte standaarden. Dit verklaart trouwens ook de aanwezigheid in profiel B. De tweede, veel grotere, dip in profiel C is hoogstwaarschijnlijk het gevolg van iso-octaan dat als solvent gebruikt werd. De continue daling van het Xe-sigitaal is te wijten aan de toenemende temperatuur van de GC (zie verder).



Figuur 2.8: Effect op $^{126}\text{Xe}^+$ -signaal bij
A: geen injectie, B: SPME-injectie van
standaardoplossing, C: klassieke injectie
van standaardoplossing (1 μL iso-octaan).

Omdat de belangrijkste verbindingen uit dit werk het plasma veel later dan het solvent bereiken, zal ook dit probleem van weinig belang zijn in dit werk. Enkel in Hoofdstuk 8 bij de bepaling van organometalen in gasmonsters door middel van headspace sorptive extraction (HSSE) zal hierop teruggekomen worden.

Instrumentele instabiliteit kan wel voor problemen zorgen. Een gekend fenomeen bij ICP-MS is het optreden van 'drift', hiermee bedoelt men meestal een wijziging in gevoeligheid op relatief langere termijn (b.v. in de orde van uren). Omdat er meestal slechts een handvol metingen per uur kunnen uitgevoerd worden, kan drift de resultaten binnen een meetsessie nadelig beïnvloeden.

1.2.5.2 Omgaan met interferenties

Spectrale interferenties kunnen op twee manieren aangepakt worden:

1. De interferentie omzeilen of reduceren

Spectrale interferentie kan vaak vermeden worden door selectie van een andere isotoop of door gebruik te maken van een 'hoge resolutie' MS. Met dergelijk type toestel kunnen een groot aantal species met gelijke nominale massa toch van elkaar gescheiden worden. Nadeel is dat die verhoogde resolutie gekoppeld is aan hogere detectielimieten en dat dit type toestellen aanzienlijk duurder is dan een toestel met een quadropoolfilter. Bovendien gebeurt het scannen van meerdere massa's ook trager als gevolg van de hysteresis van de magneet. Het afscheiden van ofwel het analiet, ofwel de storende component, kan zowel problemen met spectrale als niet-spectrale interferentie oplossen. Deze aanpak is vaak arbeidsintensiever en kan ook de kans op contaminatie vergroten. Soms kan deze afscheiding ook on-line gebeuren (b.v. aërosoldesolvatie) of kan men op instrumentele wijze beletten dat storende verbindingen ontstaan (b.v. door plasmakarakteristieken te wijzigen) of de detector bereiken (b.v. reaction cell). Niet-spectrale interferentie kan soms ook eenvoudigweg gereduceerd worden door het monster te verdunnen.

2. Corrigeren voor de interferentie

De grootte van de bijdrage van spectrale interferentie kan vaak berekend worden door de signalen van de storende verbinding bij een andere massa te meten. Op basis van de isotopische samenstelling van het storende element kan men dan de bijdrage berekenen bij de problematische massa. Deze techniek kan zeer elegant zijn, maar vergt soms veel rekenwerk en is niet bruikbaar wanneer het storende signaal veel groter is dan het analietsignaal (wegens de onzekerheid op het storend signaal).

Correctie voor niet-spectrale interferentie gebeurt zeer frequent door middel van een inwendige standaard (IS). In het ideale geval gedraagt deze verbinding zich volledig analoog aan het analiet en ondervindt het dezelfde effecten. In de praktijk voegt men aan monsters, blanco's en standaarden een gelijke concentratie aan IS toe en

definieert men het gecorrigeerde signaal (I_{corr}) als de verhouding van het analiet-sig-naal (I_{analiet}) en dat van de IS (I_{IS}):

$$I_{\text{corr}} = \frac{I_{\text{analiet}}}{I_{\text{IS}}}$$

Het gelijk zijn van de concentratie van de IS bij alle metingen is geen absolute voorwaarde. Indien deze verschilt, dient men gewoon het signaal van de IS te delen door de concentratie van de IS die gebruikt werd bij die bepaalde meting (c_{IS}). Een meer algemene formule wordt dan:

$$I_{\text{corr}} = \frac{I_{\text{analiet}}}{I_{\text{IS}}} \times c_{\text{IS}}$$

Hoewel het Xe-sig-naal als inwendige standaard kan gebruikt worden om voor instrumentele drift te corrigeren, werd dit in dit werk niet toegepast. Bij elke kwantitatieve analyse werd namelijk ook een organotinverbinding als inwendige standaard gebruikt. Het toevoegen van deze verbinding bij aanvang van de monstervoorbereiding laat namelijk correctie toe voor monstervoorbereiding en voor instrumentele drift. Aangezien de IS, TCT, die in dit werk voor de belangrijkste doelverbinding -TPhT- gebruikt werd, slechts enkele seconden later elueert, kan zeker gesteld worden dat het overgrote deel van de instrumentele instabiliteiten opgevangen wordt. Op basis van deze bedenkingen en observaties werd besloten om enkel de organotinverbinding als IS te gebruiken en het Xe-sig-naal louter voor optimalisatie en diagnostische doeleinden te hanteren.

Een andere manier om een correctie uit te voeren is door gebruik te maken van 'matrix matching'. Hierbij tracht men voor blanco en/of standaard de chemische samenstelling van het monster te benaderen. Op deze manier wordt het verschil inzake niet-spectrale interferentie tussen monster en blanco of standaard geneutraliseerd. De toepassing van standaard additie kan als een variant op deze methode beschouwd worden.

Voor een uitgebreide bespreking van interferenties bij ICP-MS wordt verwezen naar [Vanhaecke, 1992].

1.3 Perkin Elmer SCIEX Elan 5000

1.3.1 Inleiding

Ongeveer 80% van het onderzoek werd uitgevoerd met de 'Elan 5000' van de firma Perkin Elmer SCIEX (Überlingen, Duitsland). Dit toestel, met quadrupool massaspectrometer, is sinds 1993 in het laboratorium aanwezig en wordt gebruikt met pneumatische verstuiving, ETV of GC als monsterintroductiesysteem. Gezien de 'ouderdom' van dit toestel bevat het nog relatief weinig van de technische snufjes die momenteel in ICP-MS toestellen worden aangetroffen. Een foto van de Elan 5000 in standaardconfiguratie is te zien in figuur 2.9. Enkele typische kenmerken van dit toestel (met name waarin het verschilt van de HP4500) zullen hierna beschreven worden. Voor meer algemene informatie wordt verwezen naar vorige proefschriften [Boonen, 1996], [De Smaele, 1998] en [Hu, 1999]. Gezien de ervaring die reeds in het labo aanwezig was in verband met dit toestel en de koppeling aan GC, werd geen nieuw onderzoek met betrekking tot de instrumentele instellingen uitgevoerd.



Figuur 2.9: De Elan 5000 in standaardconfiguratie.

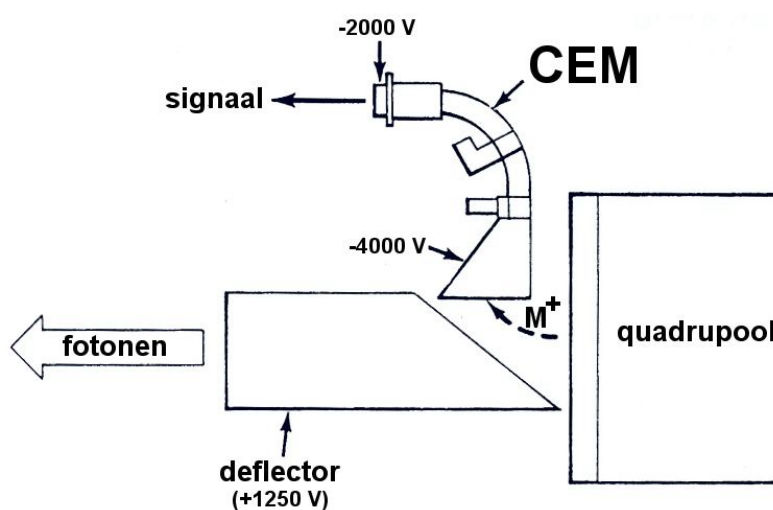
1.3.2 Typische kenmerken

- *Fotonstop*

In het lenzensysteem van de Elan 5000 bevindt zich een fotonstop (S2 lens genaamd). Dit plaatje bevindt zich op de denkbeeldige rechte lijn tussen het plasma en de quadrupoolfilter. De positieve ionen afkomstig van het plasma worden met behulp van elektrostatische lenzen rond de fotonstop, die zelf onder spanning staat, geleid. Van de fotonen, die afkomstig zijn van het plasma, botst een groot deel tegen de fotonstop omdat ze geen invloed van de lenzen ondervinden. Aangezien fotonen - net als ionen - aanleiding kunnen geven tot een detectorsignaal zorgt de fotonstop voor een lager achtergrondsignaal.

- *Channel Electron Multiplier (CEM)*

Bij de Elan 5000 wordt gebruik gemaakt van een 'posthoorn'-vormige electron multiplier van het continue type (zie figuur 2.10). Deze bestaat uit een glasachtig materiaal, gedopeerd met lood. Over beide uiteinden van de CEM wordt een spanningsverschil van enkele duizenden Volt aangelegd. De ingang van de CEM bevindt zich onder een hoek ten opzichte van de denkbeeldige rechte lijn afkomstig van het plasma. Dit zorgt, na de fotonstop, voor een tweede beveiliging tegen het inslaan van fotonen. Positieve ionen die uit de quadrupoolfilter komen worden mede door een deflector naar de ingang van de CEM (-4000 V) gebogen. Wanneer de ionen daar invallen op de wand, kunnen ze een of meerdere elektronen losslaan (primaire elektronen) die onder invloed van het elektrisch veld versneld worden richting het uiteinde van de CEM. Omdat de losgeslagen elektronen eerder de neiging hebben



Figuur 2.10: Schematische voorstelling van een channel electron multiplier (CEM).

om in een rechte baan te bewegen, kunnen ze op hun beurt door botsing met de wand andere elektronen losslaan (secundaire elektronen). Dit proces herhaalt zich verschillende malen waardoor een 'lawine' van elektronen ontstaat. Een enkel invallend deeltje kan aanleiding geven tot 10^7 à 10^8 elektronen aan het uiteinde van de CEM. Deze elektrische puls wordt gecollecteerd en verder verwerkt door de elektronica. De totale verwerking van een dergelijke puls neemt bij de Elan 5000 ongeveer 75 tot 110 ns in beslag en varieert naargelang de m/z verhouding [De Wannemacker, 2001]. Gedurende deze periode is de detector 'dood' en kan geen volgende puls verwerkt worden. Naarmate de ionentoevoer groter wordt, is de kans dat een ion invalt tijdens deze dode periode ook groter. De relatie tussen het echte signaal I_e (in counts per seconde, cps) en het gemeten signaal I_m (in cps) en de dode tijd τ (in s) kan eenvoudig opgesteld worden. De dode tijd τ vormt namelijk het verschil tussen $(I_m)^{-1}$: de gemiddelde tijd tussen twee opeenvolgende, gedetecteerde invallen en $(I_e)^{-1}$: de gemiddelde tijd tussen twee opeenvolgende, werkelijke invallen.

$$(I_m)^{-1} - (I_e)^{-1} = \tau$$

Uit de voorgaande gegevens blijkt dat de afwijking tussen echt en gemeten signaal pas relevant wordt bij grote signalen. Dit kan eenvoudig worden voorgesteld aan de hand van een voorbeeld met een hoge en een lage signaalintensiteit.

I_m (cps)	$(I_m)^{-1}$ (s)	τ (s)	$(I_e)^{-1}$ (s)	I_e (cps)	$\Delta(I_e - I_m)$
100	0,01	10^{-7}	0,009999	100,001	0,001%
10^6	10^{-6}	10^{-7}	$9 \cdot 10^{-7}$	$1,11 \cdot 10^6$	11%

Om te corrigeren voor deze afwijking wordt met behulp van de software automatisch een correctie uitgevoerd. Een juiste bepaling van de dode tijd voor ^{120}Sn werd niet uitgevoerd. Er werd steeds gebruik gemaakt van de 'algemene instelling' voor deze parameter: 69 ns. De fout die optreedt bij de correctie door middel van deze algemene instelling is vrijwel steeds verwaarloosbaar bij het soort toepassingen die in dit werk werden uitgevoerd.

- *OmniRange*

Deze functie laat toe het dynamisch bereik van het ICP-MS toestel nog groter te maken. Vanaf een bepaald ionendebiet (boven $2 \text{ à } 3 \times 10^6$ cps) raakt de detector verzadigd. Door een van de lenzen (de P-lens) te 'ontregelen' wordt slechts een fractie van de ionenbundel in de quadrupoolfilter toegelaten waardoor het aantal ionen dat effectief de detector bereikt, binnen het dynamisch bereik valt. De software laat toe om per m/z de mate van defocussing in te stellen. Dit kan door de ontregeling van de P-lens te synchroniseren met het scannen van de quadrupoolfilter.

1.3.3 Instrumentele instellingen

In tabel 2.4 is een voorbeeld gegeven van instellingen die gebruikt werden bij koppeling met GC. Voor vrijwel alle parameters werden de 'algemene instellingen' van het toestel gebruikt. Toortspositie, draaggas en de eerste extractielens werden per meet sessie geoptimaliseerd. De vier lensinstellingen zijn getallen die de regeling van vier digitale potentiometers bepalen. Deze zijn niet gelijk aan, maar staan wel in verband met, de aangelegde spanning. De instellingen voor S2-, B- en P-lens werden slechts sporadisch gewijzigd, meestal na reiniging van de lenzen. Voor sommige metingen waarbij een tijdelijke hoge telcadans verwacht werd, werd de B-lens tijdelijk aangepast naar een waarde tussen 10 en 50. Deze procedure kan als de manuele variant van de OmniRange beschouwd worden en heeft als voordeel dat de gevoeligheid binnen eenzelfde chromatogram kan aangepast worden.

Tabel 2.4: Instrumentele instellingen voor de Elan 5000.

Plasmagas	15 L/min	E1 lens	26
Hulpgas	0,8 L/min	S2 lens	41
Draaggas	1,3 L/min	B lens	47
Vermogen	1200 W	P lens	51

1.4 Hewlett Packard HP4500

1.4.1 Inleiding

Ongeveer 20% van het onderzoek werd uitgevoerd met de 'HP4500' van de firma Hewlett Packard (Stockport, U.K., ondertussen Agilent Technologies). Dit toestel werd in 1997 aan het labo organische chemie (onderzoeksgroep prof. Sandra) geplaatst en wordt voornamelijk gebruikt met GC als monsterintroductiesysteem en ook voor analyse van ultra-spooren in waterige oplossingen. Een foto van de HP4500 is weergegeven in figuur 2.11.



Figuur 2.11: De HP4500 ICP-MS.

1.4.2 Opbouw

1.4.2.1 Plasma

In dit toestel wordt het plasma opgestart en in stand gehouden door een RF-generator met een frequentie van 27,12 MHz (dit is een van de basisfrequenties voor industriële, wetenschappelijke of medische apparatuur). In tegenstelling tot de Elan 5000, die met een 'free running oscillator' (ca. 40,68 MHz) is uitgerust, maakt de HP4500 gebruik van een aparte 'matching box'. Omdat de impedantie van het plasma sterk kan verschillen, kan dit, wanneer geen correctie wordt uitgevoerd,

problemen opleveren voor de overdracht van het vermogen. Om dit te vermijden zorgt de 'matching box' ervoor dat 'schijnbare' impedantie, zoals die gezien wordt door de RF-generator, constant blijft (in dit geval 50 ohm). Hierdoor kan het vermogen efficiënter worden overgedragen. In het geval van een 'free running oscillator' wordt in plaats van de schijnbare impedantie, de frequentie van de RF-generator aangepast, dit soort circuit werkt dus zonder een aparte matching box.

Een andere karakteristiek van de HP4500 is dat het toestel uitgerust is om te werken onder 'cool plasma' condities. Deze condities worden gebruikt om onder andere Ar^+ , ArO^+ , ArC^+ en ArH^+ sterk te reduceren en leveren bijgevolg lagere detectielimieten op voor de door deze species spectraal geïnterfereerde elementen zoals Ca, Fe, Cr en K. Omdat een 'cool plasma' niet werd gebruikt voor de toepassingen die beschreven zijn in dit werk, zal de bespreking van dit vrij complexe systeem zeer kort en elementair gehouden worden. De 'koude' condities bestaan uit een lager vermogen (600 tot 900 W), grotere afstand tot de sampler en hoger gasdebiet. Bij de HP4500 moet cool plasma steeds gecombineerd worden met het 'shieldtorch' systeem. Door plaatsing van een geaard metalen schild tussen spoel en plasma wordt de capacitieve koppeling tussen deze twee componenten vermeden. Hierdoor wordt de plasmapotential herleid tot nul en treden er geen secundaire ontladingen meer op tussen ICP en de interface. Aangezien deze ontladingen grotendeels verantwoordelijk zijn voor de ionisatie van de argide moleculen, zorgt deze aanpak dus voor een sterke reductie van enkele spectrale interferenties. Omdat het vermogen sterk gereduceerd wordt, daalt de temperatuur van het plasma waardoor het een minder goede ionisatiebron wordt. Cool plasma en shieldtorch zijn dus enkel aangewezen voor de bepaling van een handvol elementen [Kishi, 1997].

Vrij recent brachten enkele Japanse onderzoekers melding van een 100-voudige stijging in gevoeligheid van GC-ICP-MS bij het gebruik van een shieldtorch systeem onder normale plasma condities [Tao, 1999]. De onderzoekers maakten ook gebruik van een HP4500. De spectaculaire stijging in gevoeligheid kon niet door de onderzoekers verklaard worden. Waarschijnlijk was ze te wijten aan de vernauwing van de energiedistributie van de ionen waardoor een betere transmissie-efficiëntie wordt verkregen. Een poging om de 'Japanse' omstandigheden te reproduceren met ons eigen toestel mislukte omdat het plasma niet kon opgestart worden wanneer de

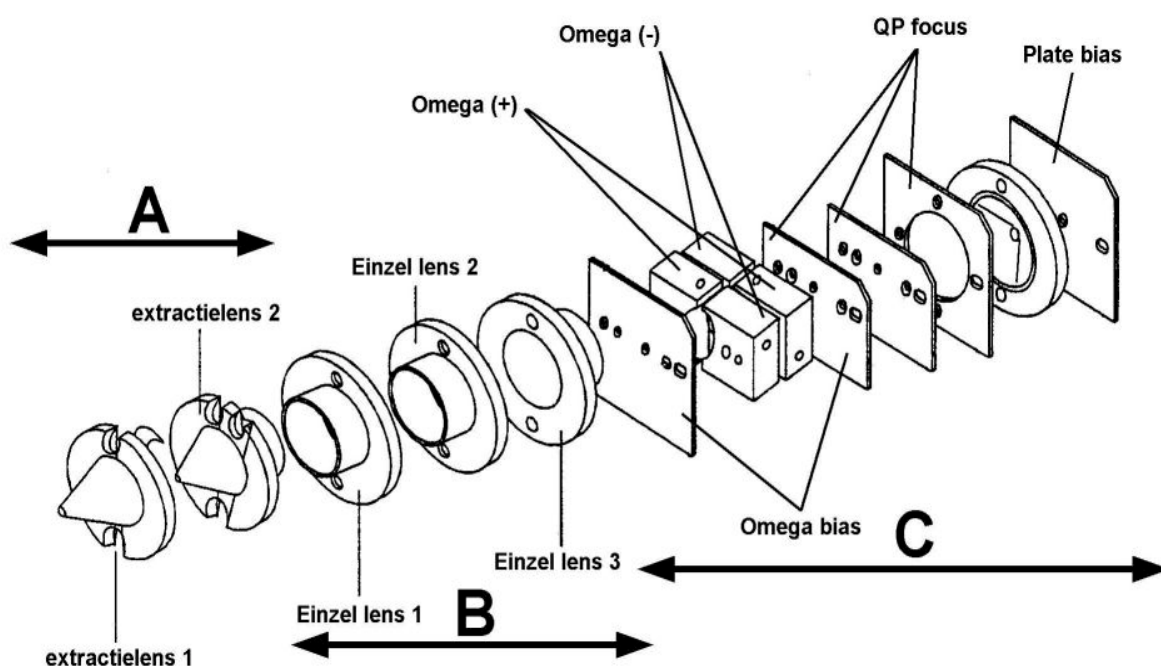
shieldtorch aanwezig was. Waarschijnlijk had dit te maken met de aanwezigheid van de metalen transferlijn, hoewel hier geen absolute zekerheid rond bestaat. Het gebruik van het shieldtorch systeem in combinatie met GC, bleef in dit werk bij deze ene poging.

1.4.2.2 Interface

Bij de HP4500 wordt voor de interface gebruik gemaakt van een 'sampler' uit Cu met een tip die uit Ni gemaakt is. In deze tip bevindt zich een opening met een diameter van 1 mm. De 'skimmer' is volledig uit Ni vervaardigd en heeft een opening van 0,4 mm. Beide cones zijn watergekoeld om schade door de hoge temperatuur van het plasma te vermijden. Wanneer het toestel in 'analysis mode' staat, zorgt een pomp voor een vacuüm in de interface met een druk van ongeveer 3×10^{-3} bar. Vlak na de skimmer bevindt zich de 'gate valve' (cfr. 'slide valve' bij de Elan 5000) die de interface kan afsluiten van het hoger vacuüm

1.4.2.3 Lenzen

Het lenzensysteem van dit toestel bestaat uit 3 delen: de extractielenzen, de Einzel lenzen en de Omega lenzen (zie figuur 2.12).



Figuur 2.12: Het lenzensysteem van de HP4500.

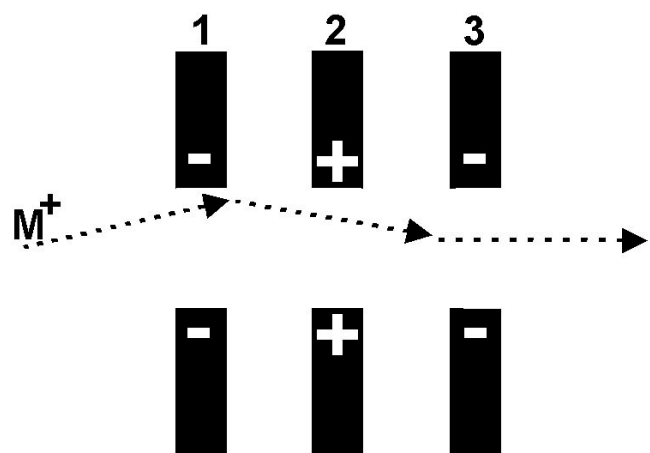
A: extractielenzen, B: Einzel lenzen, C: Omega lenzen.

- *Extractielenzen (A):*

Deze set bestaat uit twee lenzen op negatieve spanning. Zij moeten de positieve ionen die door de skimmer komen extraheren en versnellen richting Einzel lenzen. Na de skimmer zijn er positieve ionen, elektronen en neutrale verbindingen. De elektronen worden door deze lenzen afgestoten en gaan naar de aarding door botsing met de wand of de skimmer.

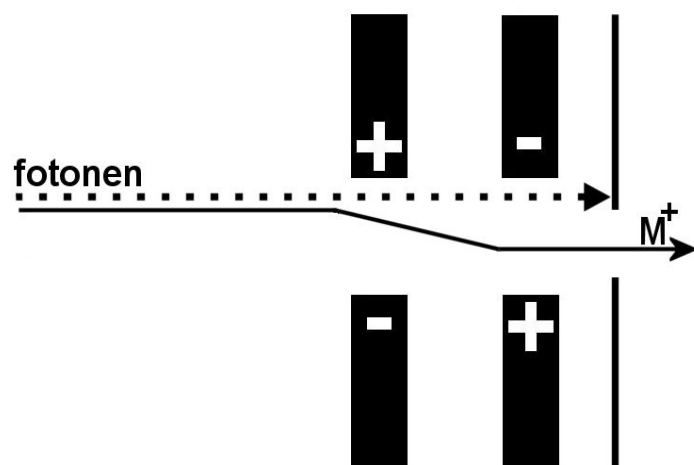
- *Einzel lenzen (B):*

De bedoeling van deze drie lenzen is het focuseren van de ionen die door de extractielenzen versneld werden. Einzel lens '1' en '3' zijn negatief geladen terwijl Einzel lens '2' een positieve lading heeft. Het aanpassen van deze positieve spanning beïnvloedt het 'focal point' van de ionen. De focussering van positieve ionen onder invloed van de drie lenzen is voorgesteld in figuur 2.13.



Figuur 2.13: Focussering door de drie Einzel lenzen

- *Omega lenzen (C):*



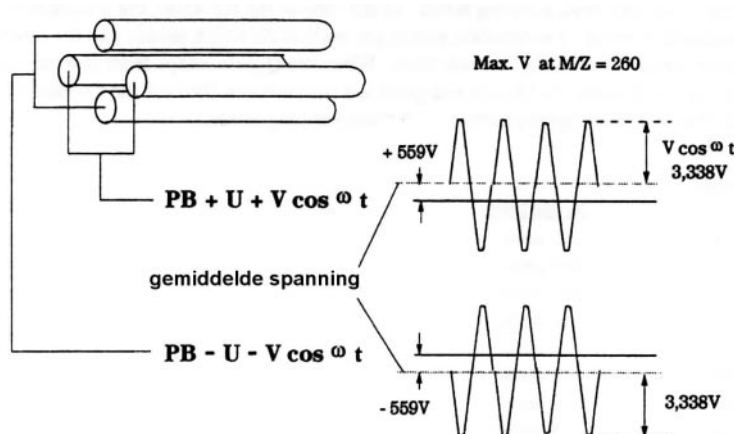
Figuur 2.14: Scheiding van ionen en fotonen door de Omega lenzen.

Deze lenzenset heeft als hoofddoel de ionen evenwijdig met hun oorspronkelijke bewegingsrichting te verschuiven voor ze de quadrupoolfilter binnentreden. Aangezien fotonen geen invloed ondervinden van het elektrisch veld worden ze niet beïnvloed door de lenzen en botsen ze tegen een plaat. Dit systeem vervangt dus de

fotonstop die in vele toestellen (b.v. Elan 5000) gebruikt wordt. Het voordeel ten opzichte van de fotonstop is dat de ionenbundel niet gesplitst wordt waardoor minder ionen verloren gaan door botsing met de fotonstop. De werking is enigszins vergelijkbaar met die van de Einzel lenzen en is schematisch voorgesteld in figuur 2.14.

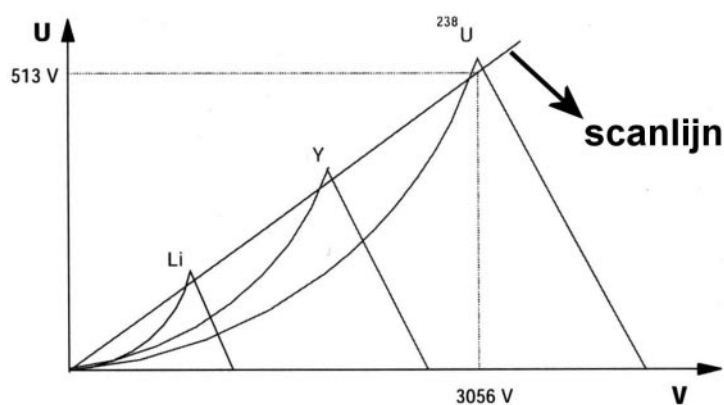
1.4.2.4 Quadrupoolfilter

De massaspectrometer van de HP4500 bestaat uit een pre-filter (vier staven van 23 mm) en een hoofdfilter (vier staven van 203 mm). Er wordt gebruik gemaakt van staven met een hyperbolisch binnenoppervlak, waardoor een perfect elektrisch veld binnen de quadrupoolfilter



Figuur 2.15: Aangelegde spanning op de quadrupoolfilter.

ontstaat. Op de pre-filter wordt enkel een wisselspanning aangelegd, terwijl op de hoofdfilter zowel wisselspanning ($V \cos \omega t$) als gelijkspanning (U) wordt gebruikt (figuur 2.15). De frequentie voor de wisselspanning (ω) bedraagt 3 MHz, wat ten tijde van het op de markt brengen van dit toestel de hoogste frequentie was binnen de ICP-MS wereld. Het voordeel van een hogere frequentie is dat er een hogere massa-resolutie verkregen wordt. Gelijk- en wisselspanning op de staven kunnen oplopen (voor de hoogste massa) tot respectievelijk 559 V en 3338 V. In principe bestaat het scannen uit het gelijktijdig opdrijven van zowel gelijk- als wisselspanning, waarbij de verhouding van U op V constant blijft. Dit kan in een U/V -diagram voorgesteld worden als een rechte door de oorsprong, de scanlijn (figuur 2.16). Per massa bestaat er binnen het U/V -diagram een 'driehoekig' gebied dat weergeeft onder welke omstandigheden ionen met die bepaalde massa een stabiele baan door de quadrupoolfilter beschrijven. De HP4500 laat, net als alle ICP-MS instrumenten, toe om een kleine aanpassing aan de gelijkspanning aan te brengen: de 'pole bias' (PB). Hierdoor wordt de scanlijn parallel met de U -as verschoven. Een positieve pole bias (verhoging van de scanlijn) zorgt voor een vertraging van de ionen en heeft een



Figuur 2.16: De scanlijn bij ICP-MS.

betere piekvorm, maar lagere gevoeligheid tot gevolg. Een negatieve pole bias (verlaging van de scanlijn) heeft het omgekeerde effect en kan gebruikt worden wanneer de ionenergie lager is dan normaal (b.v. bij gebruik van cool plasma).

Zoals bij de meeste quadrupolen kan er op twee manieren gescand worden: in 'scanning mode' of in 'peak jumping mode'. In de scanning mode wordt een volledig massagebied van lage naar hoge massa doorlopen. Bij peak jumping wordt de spanning op de staven stapsgewijs aangepast waardoor men van massa naar massa springt. Bij het verspringen van de spanningen is er een zekere tijd nodig om een stabiel elektrisch veld binnenin de quadrupoolfilter te krijgen. Deze tijd, de 'settling time' genoemd, hangt af van de grootte van de sprong en wordt automatisch door de software ingesteld op basis van de geselecteerde massa's en de grootte van de bijhorende sprongen. In tabel 2.5 zijn de door HP vermelde settling times weergegeven. Omdat settling time eigenlijk verloren tijd is, dient men in bepaalde gevallen de keuze van de meettijd per massa grondig af te wegen. Bij zeer korte meettijden kan de fractie van de tijd die verloren wordt aanzienlijk oplopen. Dit onderwerp zal uitgebreid aan bod komen in Hoofdstuk 5.

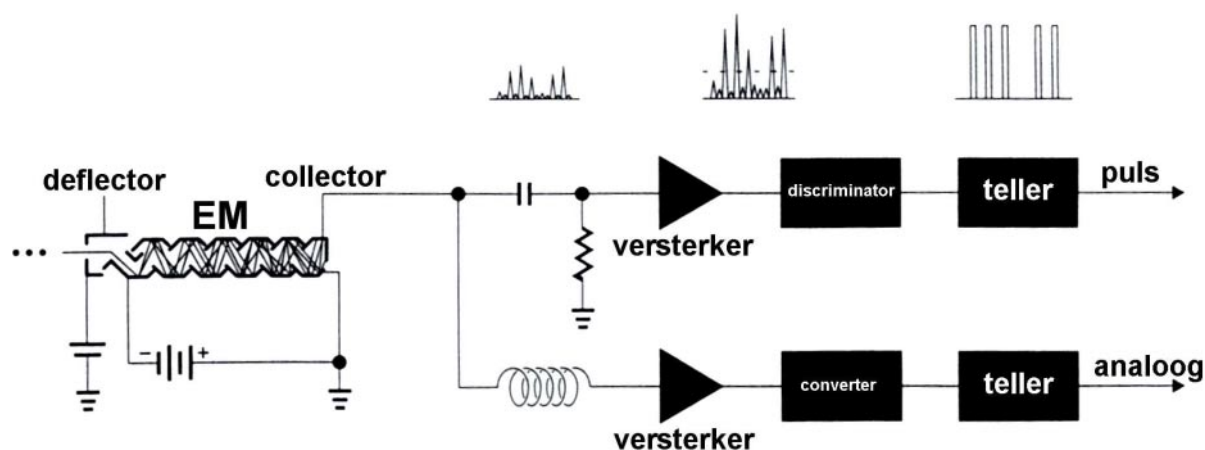
Tabel 2.5: Settling times van de HP4500.

Massasprong (u)	≤ 0,25	≤ 0,45	≤ 1	≤ 50	≤ 100	≤ 200	> 200
Settling time (ms)	0,2	0,4	1	2	3	4	5

1.4.2.5 Detector

In tegenstelling tot de Elan 5000 beschikt de HP4500 over een detector met discrete dynodes. Qua werkingsprincipe verschilt deze detector niet veel van een channel

electron multiplier, zoals gebruikt bij de Elan (zie 1.3.2). De dynodes zijn als vertakkingen op een ketting van weerstanden geplaatst, hierdoor wordt de spanning per dynode steeds negatiever. Het totale spanningsverschil tussen de eerste en de laatste dynode bedraagt ongeveer 2000 V. Vermeldenswaardig is dat de HP is uitgerust met een 'dual mode' detectiesysteem (zie figuur 2.17). Afhankelijk van de telcadans kan de verwerking analoog of door middel van pulsen gebeuren. Zoals eerder al werd vermeld ontstaan er problemen wanneer het systeem een te groot aantal pulsen op een korte tijd moet verwerken. In het geval van een dergelijke hoge telcadans kunnen de pulsen echter als een elektrische stroom gemeten worden. Deze stroom wordt door een 'converter' eerst omgezet naar een spanning en vervolgens naar een frequentie die op haar beurt omgezet wordt naar een aantal tellen. Deze laatste omzetting wordt bepaald door de P/A factor. De P/A factor duidt de verhouding aan tussen de 'puls counts' en de 'analoge counts' voor eenzelfde hoeveelheid ionen met dezelfde massa. Om de lineaire range nog verder uit te breiden wordt in de analoge modus de spanning op de laatste dynode verminderd, waardoor de spanning op alle dynodes verandert. Deze vermindering in potentiaalverschil is van die aard dat de multiplicatiefactor tien keer lager wordt. Aangezien de stroomsterkte van een ionpuls afhankelijk is van de massa van het ion, zou men in theorie voor elke massa de P/A factor moeten bepalen. In de praktijk blijkt dat deze factor boven een massa van 60 u nagenoeg constant blijft.



Figuur 2.17: Detectiesysteem van de HP4500: een discrete electron multiplier in combinatie met het 'dual mode' systeem.

De beslissing om in analoge of pulsmodus te meten, kan ofwel manueel, ofwel automatisch gebeuren. In het laatste geval wordt voor de eigenlijke meting een pre-

scan uitgevoerd in de analoge modus. Hierbij wordt slechts een milliseconde per te meten massa gescand. Op basis van de signaalsterkte beslist de software welke elementen in welke modus gemeten worden. De HP4500 laat dus toe om binnen éénzelfde meting bepaalde elementen in analoge en andere in puls modus te meten.

De correctie voor dode tijd gebeurt bij de HP4500 op vergelijkbare manier als bij de Elan 5000. De dode tijd bedroeg 22,5 ns en werd in de loop van dit werk niet aangepast.

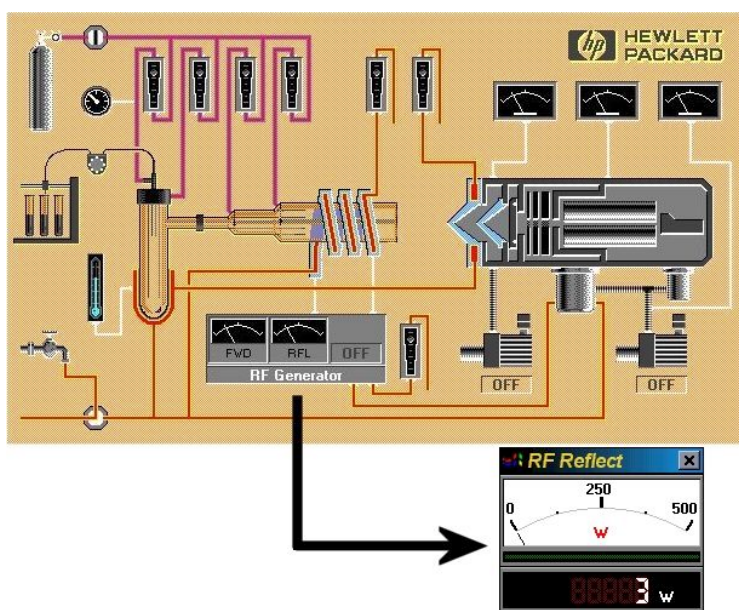
1.4.2.6 Software

De HP4500 is uitgerust met de “HP Chemstation software”. Dit pakket laat niet enkel toe om de data te verwerken, maar kan ook gebruikt worden om het overgrote deel van de instrumentele instellingen te wijzigen. Het afstellen van onder meer toortspositie, lenzen, gasstromen etc. kan allemaal via een klik op de muis. Naast de sturende kant van de software is er ook een

diagnostische kant. In het ‘Instrument Control’ venster (figuur 2.18) kan men de status van verschillende onderdelen en de uitlezing van controlemeters bekijken. De software bevat ook een ‘autotune’ functie waarmee onder standaardomstandigheden en bij gebruik van pneumatische verstuiving gevoeligheid, achtergrond en massa-resolutie automatisch kunnen geoptimaliseerd worden.

Het meten kan uitgevoerd worden in vier ‘acquisition modes’:

Spectrum: is de standaard modus en wordt gebruikt voor een normale analyse van een constant signaal. De te meten massapunten binnen één opname (‘acquisition’)



Figuur 2.18: Het ‘Instrument Control’ venster laat toe om de status van verschillende onderdelen en de uitlezingen van de controlemeters snel te bekijken.

en het aantal herhalingen ('repetitions') van die opname worden vastgelegd. Per opname worden 100 scans uitgevoerd. De effectieve meettijd per punt (dwell time) is dus 100 keer lager dan de ingestelde 'integration time'.

Time resolved analysis: is de aangewezen modus voor het meten van transiënte signalen. De te meten massapunten en de totale tijdsduur worden hierbij ingesteld. Per opname wordt slechts één scan uitgevoerd. De dwell time is in deze modus dus gelijk aan de ingestelde 'integration time'.

Time program: is een variant op de vorige modus waarbij binnen een meting verschillende instrumentele instellingen en verschillende scanparameters gebruikt kunnen worden.

Isotope analysis: is een variant op de spectrum mode. Per opname worden 1000 scans uitgevoerd om een betere precisie voor isotopenverhoudingen te verkrijgen. De effectieve meettijd per punt (dwell time) is dus 1000 keer lager dan de ingestelde 'integration time'.

Na het kiezen van de gepaste modus, worden de bijhorende meetparameters vastgelegd (zie figuur 2.19).

Time Resolved Analysis Acquisition Parameters

☒ Set every Mass

Masses

Integration time

per Point: 0.1000 [sec]

{ 100.00 [msec]}

Detector: Pulse

Acquisition Time

Sampling: 0.216700 [sec]

Acquisition: 600 [sec]

Repetition: 1

Total Time: 600 [sec]

Peak Pattern

TRA (1)

Full Quant (3)

Semi Quant (6)

Maximum (20)

Integration Time [sec]

Mass Elem.	per Point	per Mass	Detector
118 Sn	0.1000	0.1000	Pulse
120 Sn	0.1000	0.1000	Pulse
126 Xe	0.0100	0.0100	Pulse

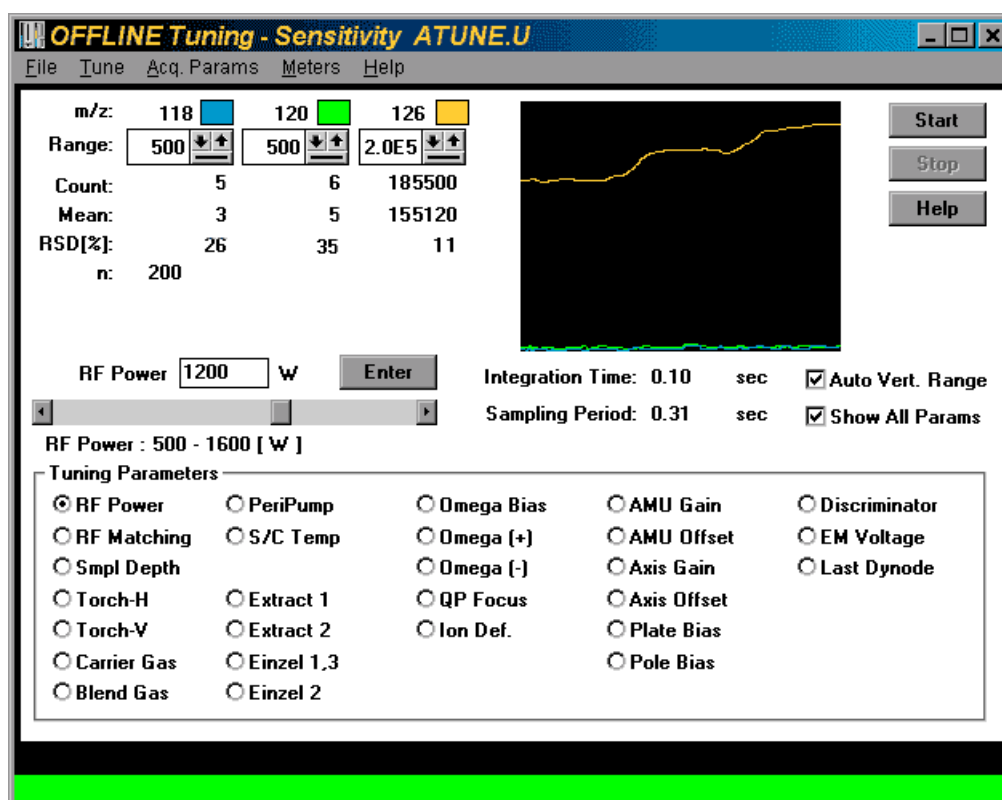
OK Cancel Help Check Parameter Enter

Figuur 2.19: Het instellen van de meetparameters bij de HP4500.

Voor al deze 'modes' geldt dat een massagebied met een breedte van één u (unified atomic mass unit) wordt onderverdeeld in 20 gelijke stukken (van elk 0,05 u). De gebruiker kan via de software uit vier mogelijkheden kiezen om te bepalen hoeveel gebieden er per massa gemeten worden. Deze instelling is zichtbaar onder 'peak pattern' in figuur 2.19. Voor transiënte signalen wordt aangeraden enkel het middelste stuk (één staaf) te meten. Het belang van al deze parameters zal uitgebreid aan bod komen in Hoofdstuk 5.

1.4.3 Tuning

De optimalisatie van de HP4500 gebeurt aan de hand van een tuning venster (figuur 2.20) waar het effect van 27 instrumentele instellingen zichtbaar is op maximum drie massa's. In geval van koppeling met GC wordt net als bij de Elan 5000 het signaal van $^{126}\text{Xe}^+$ gevolgd. Per meetsessie werden de horizontale en verticale positie van de toorts, het draaggas en de instellingen van de extractielenzen geoptimaliseerd. Voor de meerderheid van de andere parameters werden meestal de instellingen van de configuratie met pneumatische verstuiver overgenomen.



Figuur 2.20: De uitgebreide tuningmogelijkheden van de HP4500.

1.4.4 Instrumentele instellingen

Een voorbeeld van een set instrumentele instellingen zoals ze gebruikt werden bij koppeling met GC is weergegeven in tabel 2.6 (de termen werden rechtstreeks uit de software overgenomen). Zoals uit deze tabel kan opgemerkt worden is de druk waarbij de quadrupoolfilter zich bevindt, tien keer lager dan bij de Elan 5000.

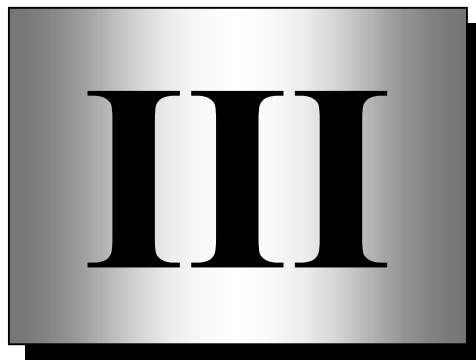
Tabel 2.6: Instrumentele instellingen voor de HP4500.

RF Power	RF Matching	Smpl Depth	Torch-H	Torch-V	Carrier Gas
1300 W	1,9 V	5,4 mm	-1 mm	0,4 mm	1,35 L/min
Blend Gas	Peripump	Extract 1	Extract 2	Einzel 1,3	Einzel 2
0 L/min	0 rps	-185 V	-185 V	- 40 V	11 V
Omega Bias	Omega (+)	Omega (-)	QP Focus	Ion Def	AMU Gain
-40 V	4 V	- 4 V	5 V	50 V	138
AMU Offset	Axis Gain	Axis Offset	Plate Bias	Pole Bias	Discriminator
172	1,0005	0,07	- 1 V	- 2 V	11,2 mV
EM Voltage	Last Dynode	Vacuum Interface	Vacuum Analyser	Plasma Gas	Aux. Gas
- 2000 V	- 362 V	3×10^{-3} bar	2×10^{-9} bar	15 L/min	1 L/min

1.5 Referenties hoofdstuk 2

•	Hittorf, 1891	Hittorf W, ANN PHYS, 1891 , 21, 90-139
•	Reed, 1961	Reed TB, J APPL PHYS, 1961 , 32, 2534-2535
•	Wendt, 1966	Wendt RH en Fassel VA, ANAL CHEM, 1966 , 38, 337-338
•	Houk, 1980	Houk RS, Fassel VA, Flesch GD, Svec HJ, Gray AL en Taylor CE, ANAL CHEM, 1980 , 52, 2283-2289
•	Montaser, 1998	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ed. Montaser A, 1998 , Wiley-VCH, New York, VS
•	Hill, 1999	Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications, ed. Hill SJ, 1999, Sheffield Academic Press Ltd, Sheffield, UK
•	Myers, 1993	Myers DP en Hieftje GM, MICROCHEM J, 1993 , 48, 259-277
•	Riondato, 2000	Riondato J, Doctoraatsthesis, 2000 , Universiteit Gent
•	De Wannemacker, 2001	De Wannemacker G, Doctoraatsthesis, 2001 , Universiteit Gent
•	Vanhaecke, 1992	Vanhaecke F, Doctoraatsthesis, 1992 , Universiteit Gent
•	ICP-MS Data Base, 1995	ICP-MS Chemstation, ICP-MS Data Base, version A.01.03, 1995 , Hewlett-Packard
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, Doctoraatsthesis, 1998 , Universiteit Gent
•	Boonen, 1996	Boonen S, Doctoraatsthesis, 1996 , Universiteit Gent
•	Tao, 1998	Tao H, Murakami T, Tominaga M en Miyazaki A, J ANAL AT SPECTROM, 1998 , 13, 1085-1093
•	Yamanaka, 2000	Yamanaka M en Donard OFX, Agilent technologies application note, 2000 , http://www.chem.agilent.com/temp/radCE861/00027388.pdf
•	Kim, 1992	Kim AW, Foulkes ME, Ebdon L, Hill SJ, Patience RL, Barwise AG en Rowland SJ, J ANAL AT SPECTROM, 1992 , 7, 1147-1149
•	Ruiz Encinar, 2000	Ruiz Encinar J, Garcia Alonso JI en Sanz-Medel A, J ANAL AT SPECTROM, 2000 , 15, 1233-1239
•	Feldmann, 2001	Feldmann J, Naëls L en Haas K, J ANAL AT SPECTROM, 2001, 16, 1040-1043
•	Greenfield, 1964	Greenfield S, Jones IL en Berry CT, ANALYST, 1964, 89, 713-720
•	Tao, 1999	Tao H, Rajendran RB, Quetel CR, Nakazeto T, Tominaga M en Miyazaki A, ANAL CHEM, 1999 , 71, 4208-4215
•	Kishi, 1997	Kishi Y, HEWLETT-PACKARD JOURNAL, 1997 , august, 1-7

Hoofdstuk



GASCHROMATOGRAPHIE (GC)

The world is a book, and those who do not travel read only a page...(St. Augustine)

1.1 Inleiding

Gaschromatografie (GC) is zonder twijfel een van de meest elegante scheidingstechnieken die er bestaan. De basisvoorwaarde om te spreken van GC is dat vluchtige verbindingen van elkaar gescheiden worden op basis van hun verdeling over een mobiele gasfase en een stationaire fase. Indien de stationaire fase een vaste stof is, spreekt men van adsorptiechromatografie, in het geval er een vloeibare fase gebruikt wordt van partitiechromatografie. Bij GC stroomt de mobiele fase door een kolom waarin zich de stationaire fase bevindt. Tegenwoordig wordt er vooral capillaire gaschromatografie (CGC) toegepast. Hierbij bevindt de stationaire fase zich op de wand van de kolom.

In dit werk werd uitsluitend gebruik gemaakt van CGC. De techniek werd aangewend om verschillende organotinverbindingen van elkaar te scheiden voor ze in het ICP terecht kwamen. De scheiding is van essentieel belang aangezien de moleculen in het plasma volledig afgebroken worden waardoor het ICP-MS apparaat enkel 'Sn' kan detecteren, zonder verder informatie te verschaffen van welk soort molecule het metaal afkomstig is. Aangezien de meeste organotinverbindingen niet voldoende vluchtig zijn om als dusdanig te worden gescheiden, vindt er vooraf meestal een derivatisatie plaats. De bespreking en de optimalisatie van dit deel van het onderzoek zal in hoofdstuk 7 aan bod komen.

In dit hoofdstuk zullen enkele algemene principes en belangrijke begrippen van GC zeer beknopt aan bod komen. De instrumentele opbouw van een GC en de twee toestellen die in dit werk gebruikt werden zullen kort toegelicht worden. De optimalisatie van het ovenprogramma voor de scheiding van TPhT en TCT zal aan bod komen, evenals de invloed van de stationaire fase en de vergelijking tussen twee types draaggassen. Een aantal technische kenmerken van het introductiesysteem zijn sterk afhankelijk van de gebruikte extractietechniek en zullen in hoofdstukken 6 en 8 behandeld worden. Omdat de scheiding van de organotinverbindingen relatief weinig problemen met zich meebrengt, werd CGC in een van zijn meest eenvoudige vormen toegepast. Daarom vallen de vele innovaties

die de afgelopen decennia in de chromatografische wereld zijn opgedoken, grotendeels buiten het kader van dit werk.

1.2 Theoretische aspecten

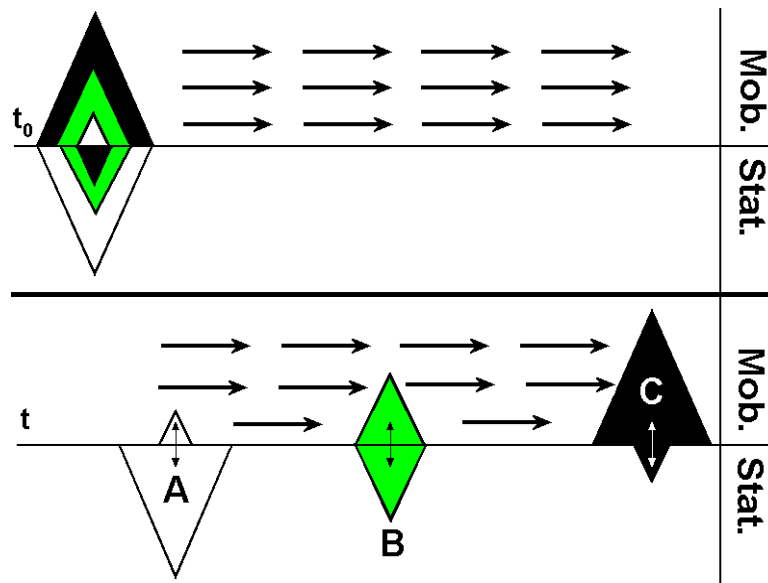
1.2.1 Historiek

Alhoewel bepaalde bronnen aantonen dat 'chromatografie' al meerdere eeuwen oud is, wordt de ontdekking algemeen toegeschreven aan de Russische botanicus Tswett (1906). Hij was waarschijnlijk de eerste die het proces begreep en het in het begin van vorige eeuw bewust toepaste om plantenpigmenten van elkaar te scheiden. Aanvankelijk werd er maar weinig aandacht besteed aan deze techniek. Enkele decennia later, in 1941, zorgden Martin en Synge voor een belangrijke doorbraak met de introductie van partitiechromatografie [Martin, 1941]. Ongeveer 10 jaar later lag opnieuw Martin, samen met de jonge wetenschapper James, aan de oorsprong van de gaschromatografie [James, 1952]. De volgende grote doorbraak kwam er toen Golay enkele jaren later de capillaire kolom introduceerde [Golay, 1958]. Sedertdien zijn er verschillende evoluties geweest op het gebied van materialen en constructietechnieken voor zowel de kolommen zelf als voor de stationaire fasen.

1.2.2 Principe

De klassieke chromatografie steunt op het feit dat verbindingen zich volgens een bepaalde manier verdelen over een stationaire en een mobiele fase. Wanneer een aantal stoffen uit een mengsel zich voldoende verschillend gedragen in een dergelijk systeem, is het mogelijk ze van elkaar te scheiden. Het gedrag van een bepaalde verbinding wordt bepaald door het verschil in affiniteit voor de twee fasen. Het is evident dat naarmate een stof een grotere affiniteit heeft voor de stationaire fase ze zich trager door de kolom zal bewegen. De verdeling van drie stoffen in een chromatografisch systeem is voorgesteld in figuur 3.1. Stof A heeft de grootste affiniteit voor de stationaire fase, stof B een gemiddelde en stof C de kleinste. Uit deze figuur kan men ook opmaken dat naarmate het scheidingsproces langer duurt,

de scheiding tussen de verbindingen groter zal zijn. Door na een bepaalde afstand een detector te plaatsen kan men het 'doorkomen' van de verbindingen in functie van de tijd registreren. Wanneer men het signaal uitzet in functie van de tijd spreekt men van een chromatogram.

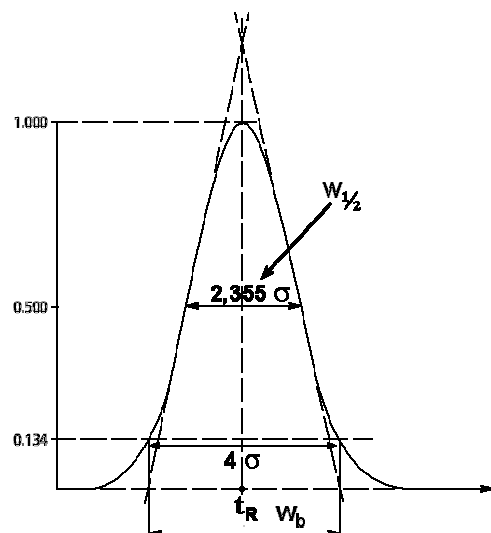


Figuur 3.1: Hoe meer affiniteit voor de stationaire fase, hoe trager een verbinding zich voortbeweegt.

1.2.3 Belangrijke begrippen

Het signaal van een verbinding in een chromatogram beschrijft in het ideale geval een Gaussiaans verloop (figuur 3.2). Enkele belangrijke aspecten daarbij zijn:

- het maximum: dit bepaalt de piekhoogte en de retentietijd t_R
- de breedte op halve hoogte $w_{1/2}$ (gelijk aan 2,355 maal σ)
- de breedte aan de basis w_b (aangezien die in theorie oneindig is, neemt men meestal 4 maal σ , wat overeenkomt met de breedte op 13,4 % van de piekhoogte)



Figuur 3.2: Een ideale chromatografisch piek beschrijft een Gaussiaanse curve.

De manier waarop een stof zich verdeelt over mobiele en stationaire fase, wordt uitgedrukt door de capaciteits- of retentiefactor k . Deze wordt gedefinieerd als de verhouding van het aantal mol in de stationaire (n_s) en de mobiele fase (n_m).

$$k = \frac{n_s}{n_m} = \frac{c_s \cdot V_s}{c_m \cdot V_m} = \frac{K}{\beta}$$

Wanneer men n vervangt door het product van de concentratie en het volume kan k ook herschreven worden als de verhouding van de evenwichtsconstante K (ook verdelings- of partiticoëfficiënt genaamd) en de faseverhouding β .

Elke verbinding heeft een minimumtijd nodig om de kolom te doorlopen, zelfs als er geen interactie met de stationaire fase plaatsvindt. Een verbinding die geen interactie met de stationaire fase ondergaat, beweegt zich aan dezelfde snelheid als de mobiele fase. De tijd t_0 (dode tijd) die de mobiele fase nodig heeft om door de kolom te 'reizen', hangt dus logischerwijze af van de lengte van de kolom L en de gassnelheid u .

$$t_0 = \frac{L}{u}$$

De extra tijd die een verbinding doorbrengt op de kolom, noemt men de netto retentietijd t'_R .

$$t'_R = t_R - t_0$$

De retentiefactor k kan niet alleen als een verhouding van de hoeveelheden in de twee fasen geschreven worden, maar ook als de verhoudingen van de tijd die in beide wordt doorgebracht: de nettoretentietijd, en de dode tijd.

$$k = \frac{t'_R}{t_0}$$

Uit het voorgaande mag duidelijk zijn dat de retentietijd of de retentiefactor kwalitatieve criteria zijn die toelaten om verschillende stoffen te identificeren en van

elkaar te onderscheiden. Afhankelijk van het chromatografisch systeem kan de retentietijd een eigenschap zijn die kenmerkend is voor een bepaalde verbinding.

De mate waarin een chromatografisch systeem onderscheid kan maken tussen twee verbindingen wordt bepaald door de verhoudingen van de nettoretentietijden van de twee verbindingen. Deze verhouding noemt men de selectiviteitsfactor α . Die ook kan geschreven worden in functie van de retentiefactoren of de partitiecoëfficiënten.

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2}{K_1}$$

In tegenstelling tot de toestand bij een statisch systeem is de verdeling binnen een dynamisch systeem niet zo eenvoudig voor te stellen. Men kan een dergelijk systeem vereenvoudigd beschouwen als een aaneenschakeling van statische systemen met opeenvolgende evenwichtsinstellingen. De 'efficiëntie' van een kolom wordt bepaald door het aantal theoretische platen N . Een theoretische plaat wordt gedefinieerd als:

Een ideale sectie van een kolom waar de concentratie van een verbinding evenwicht bereikt tussen mobiele en stationaire fase.

In dit kader definieert men ook het hoogte-equivalent-van-een-theoretische-plaat: **H(ETP)** als de lengte L gedeeld door het aantal platen N . H wordt ook gedefinieerd als de piekvariantie per kolomlengte.

$$H = \frac{L}{N} = \frac{\sigma^2}{L}$$

Mits enkele substituties kan N geschreven worden als:

$$N = 5,54 \frac{(t_R)^2}{(w_{1/2})^2}$$

H blijkt sterk afhankelijk te zijn van de snelheid van de mobiele fase u . Het verband wordt gegeven door de befaamde Van Deemter vergelijking:

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u$$

Waarbij:

A \Rightarrow de kronkeldiffusie in een gepakte kolom door verschil in afgelegde weg

B \Rightarrow longitudinale diffusie als gevolg van concentratiegradiënt

C \Rightarrow weerstand tegen massatransfer

Aangezien er bij capillaire kolommen geen kronkeldiffusie optreedt, valt de A-term weg. Na opsplitsing van de C-term in een mobiele en een stationaire component bekomt men de Golay vergelijking:

$$H = \frac{B}{u} + C_m u + C_s u$$

Waarbij:

B $\sim D_m$ (diffusiecoëfficiënt in de mobiele fase)

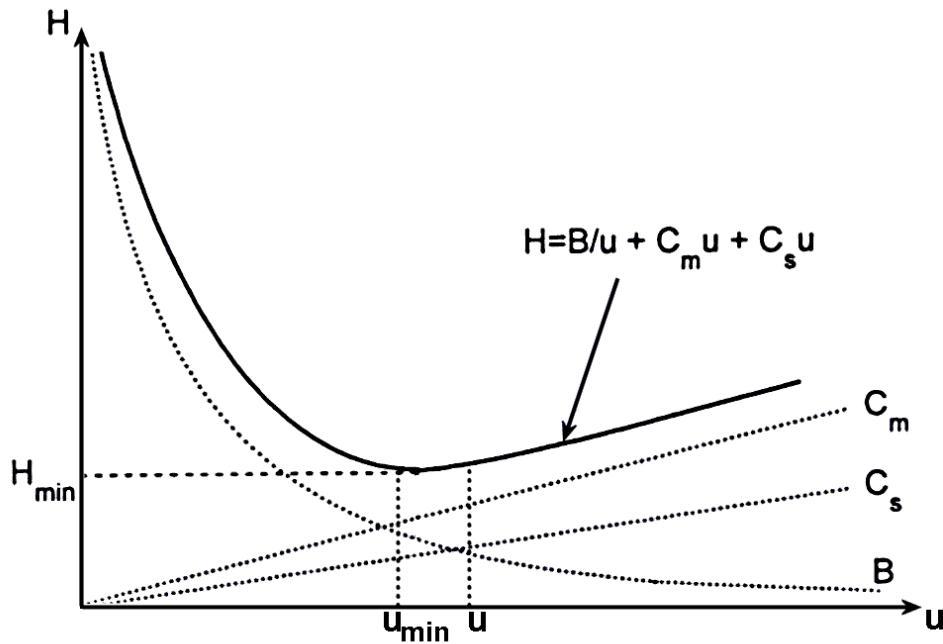
$C_m \sim (D_m)^{-1}$

$\sim r_k^2$ (straal van de kolom)

$C_s \sim (D_s)^{-1}$ (diffusiecoëfficiënt in de stationaire fase)

$\sim d_f^2$ (filmdikte van de stationaire fase)

De bijdrage van de verschillende delen is voorgesteld in figuur 3.3. De maximale efficiëntie treedt op bij een gassnelheid waarvoor H minimaal is (in de figuur voorgesteld als u_{\min}). In de praktijk dient men echter ook de analysetijd in rekening te brengen. Meestal geeft men een deel van de efficiëntie op, in ruil voor een snellere analyse. Vandaar dat de gebruikte snelheid u steeds hoger zal zijn dan u_{\min} . Uit de figuur valt af te leiden dat de curve voorbij u_{\min} vlakker zal verlopen naarmate C kleiner is. Dit verklaart onder andere waarom waterstof zo populair is als draaggas bij GC. Omdat de diffusie in H_2 groter is dan in andere gassen zoals He, Ar of N_2 , zal de C_m factor kleiner zijn en de curve bij hogere gassnelheden vlakker. Hierdoor verliest men relatief minder aan efficiëntie wanneer de gassnelheid verhoogt. H_2 heeft ook als voordeel dat het een lagere viscositeit heeft dan de andere gassen. Hierdoor kunnen bij gelijke druk, hogere gassnelheden bekomen worden.



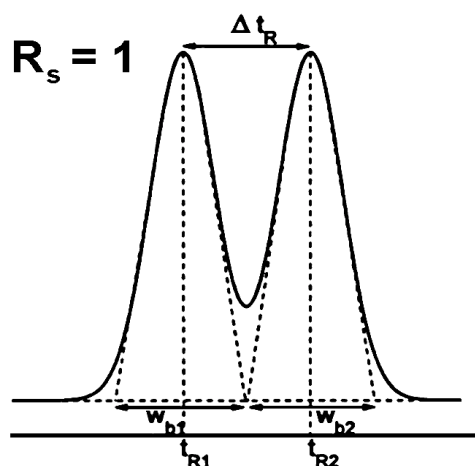
Figuur 3.3: Voorstelling van de Golay vergelijking bij capillaire chromatografie.

Er dient ook nog vermeld te worden dat H en N afhankelijk zijn van de retentietijd (of retentiefactor) waardoor ze aanzienlijk kunnen verschillen voor componenten uit eenzelfde mengsel.

Een laatste belangrijk begrip uit de chromatografie is de resolutie R_s . Hiermee wordt aangeduid in hoeverre twee componenten van elkaar gescheiden zijn. De resolutie wordt gedefinieerd als:

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2} (w_{b1} + w_{b2})} \approx \frac{\Delta t_R}{w_b}$$

Uit deze definitie is duidelijk dat hoe hoger de resolutie, hoe beter de componenten gescheiden zullen zijn. Door de breedte aan de basis uit te drukken in functie van σ , bekomt men na berekening dat voor $R_s = 1$, de pieken voor 95,44% gescheiden zijn (zie figuur 3.4). In de praktijk beschouwt men een resolutie van 1,5 meestal als voldoende. Indien er een groot concentratieverschil is tussen de twee pieken, is een hogere waarde gewenst.



Figuur 3.4: Mate van scheiding bij een resolutie van één.

Om de effecten die de resolutie beïnvloeden kenbaar te maken, wordt R_s regelmatig herschreven in volgende vorm (waarbij k de gemiddelde retentiefactor is):

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{\alpha-1}{\alpha} \frac{k}{k+1}$$

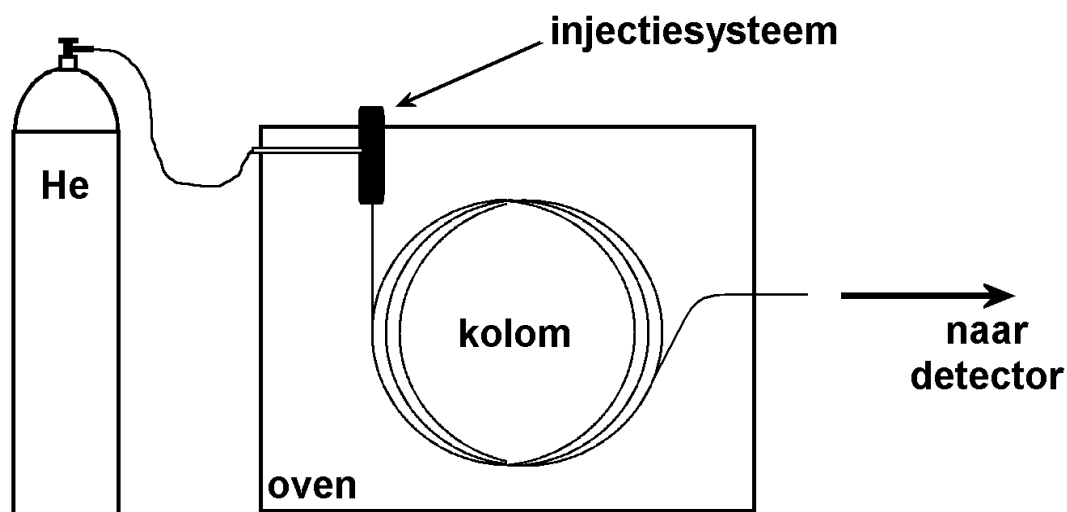
De volledige bespreking van het begrip resolutie is niet zo eenvoudig omdat de verschillende parameters onderling met elkaar in verband staan. Aangezien er zich in dit werk geen grote problemen voordeden in verband met ontoereikende resolutie, valt de verdere bespreking van dit begrip buiten het kader van dit werk. Voor meer informatie wordt verwezen naar de literatuur.

Tot slot dient nog vermeld te worden dat de meeste van voorgaande vergelijkingen gelden voor isotherme systemen. In de praktijk (en ook in dit werk) wordt vrijwel steeds gebruik gemaakt van temperatuurprogramma's. Dit aspect zal verderop aan bod komen (zie 1.2.4.3).

1.2.4 Opbouw

De schematische opbouw van een gaschromatograaf is voorgesteld in figuur 3.6. De meest essentiële onderdelen zijn het injectiesysteem, de kolom, de oven en de detector. Gezien de aard van de detector die in dit werk gebruikt werd, bevindt deze

zich buiten het GC-toestel. In de meeste gevallen is de detector echter ingebouwd in het toestel zelf.



Figuur 3.6: Schematische voorstelling van een gaschromatograaf.

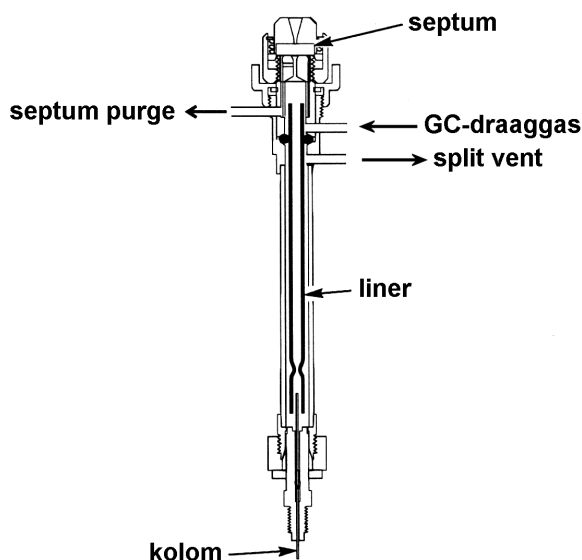
1.2.4.1 Injectiesysteem

In het voorgaande werd steeds aangenomen dat alle verbindingen exact gelijktijdig op de kolom gebracht werden en dat piekverbreding enkel optrad door het scheidingsproces zelf. In realiteit zal de monsterintroductie ook bijdragen tot een zekere piekverbreding en is het zeer belangrijk om de verbindingen in een zo smal mogelijke band op de kolom te brengen.

- *Splitless injectie*

De meeste gaschromatografen zijn standaard uitgerust met een split/splitless injectiesysteem (figuur 3.7). Hiermee kan een bepaalde hoeveelheid oplossing (ca. 1 μL) met behulp van een GC-injectienaald op de kolom gebracht worden. Voor alle 'gewone' injecties die in dit werk werden uitgevoerd, werd splitless injectie toegepast. Hierbij wordt de vloeistof in de verwarmde injectiekamer ingespoten, vervluchtigen de componenten en worden ze met het GC-draaggas meegevoerd naar de kolom. De injectie gebeurt ongeveer in het midden van een kwarts buisje (liner). De interactie van vervluchtigde verbindingen met het septum kan problemen veroorzaken. Daarom wordt er vaak een kleine flow langs het septum gestuurd (septum purge). Na één tot twee minuten is het overgrote deel van de verbindingen uit de injectiekamer

verdwenen. Om te vermijden dat de resterende fractie voor piektailing zou zorgen wordt de split valve geopend waardoor een grotere flow de injectiekamer spoelt (purge). De gasstroom (split flow) die langs de uitlaat (split vent) het systeem verlaat is meestal 10 tot 100 keer groter dan de gasstroom door de kolom zodat slechts 10, respectievelijk 1% op de kolom terecht komt. De gasverdeling in een GC is zo geconstrueerd dat het openen of sluiten van de split valve de totale flow door de kolom ongewijzigd laat. Naast het spoelen van de injectiekamer heeft de split flow ook als voordeel dat de totale flow (kolom + split) groter is en dus eenvoudiger te controleren. De split flow bedroeg ongeveer 50 mL/min en werd in dit werk niet gewijzigd.



Figuur 3.7: Split/splitless injectiesysteem

- *Split injectie*

Aangezien de capaciteit van een capillaire kolom relatief beperkt is, is de kans dat overlading van de kolom optreedt niet ondenkbaar. In plaats van het monster vooraf te verdunnen, kan men split injectie uitvoeren. In dit geval is de split valve al voor de injectie geopend zodat slechts een fractie van de ingebrachte verbindingen de kolom bereikt. De verhouding van de totale gasstroom (split + kolom) en de gasstroom door de kolom wordt de 'split ratio' genoemd. In de praktijk zorgt dit soort injectie voor een on-line verdunning. Split injectie heeft ook het voordeel dat smallere injectiebanden gevormd worden waardoor de totale piekverbreding minder zal zijn dan bij splitless injectie. Afhankelijk van de toepassing kan de verdunning een nadeel of een voordeel zijn. Een algemeen nadeel van de techniek is dat massadiscriminatie kan optreden bij de verdeling kolom vs. split vent.

Bij klassieke injectie werd in dit werk de 'hot-needle fast injection' toegepast. Hierbij wordt het monster opgezogen in de injectienaald zonder lucht tussen monster en 'plunger' te laten. Na het inbrengen van de naald in de injectiezone wordt drie tot vijf seconden gewacht om de naald te laten opwarmen. Vervolgens wordt het monster

zo snel mogelijk geïnjecteerd en wordt de naald binnen de seconde uit de injectiekamer verwijderd. Afhankelijk van de gebruikte injectietechniek wordt er een andere binnenbehuizing (liner) van de injectiekamer gebruikt. De liner hangt af van het soort injectie en het injectievolume. Het volume gas dat wordt gevormd, moet steeds kleiner zijn dan het beschikbare volume in de liner. Het gasvolume wordt bepaald door het soort solvent, de druk en de injectietemperatuur. In dit werk werd steeds één microliter iso-octaan gebruikt. Bij een druk van 30 psi (2,07 bar) en een temperatuur van 250°C resulteert dit in 86 µL gas. Voor klassieke injectie werd er gebruik gemaakt van een eenvoudige splitless liner (i.d. 2 mm, volume 290 µL). Bij SPME-injectie werd een speciale SPME-liner gebruikt (i.d. 0,75 mm, volume 40 µL). Het kleinere volume van deze laatste levert geen problemen op aangezien er bij SPME geen solvent geïntroduceerd wordt.

Zoals hierboven al werd vermeld, speelt de injectietemperatuur een belangrijke rol. Bij gewone injectie werd een algemeen gebruikte instelling van 250°C toegepast. Voor SPME, waar de temperatuur een belangrijk effect heeft op de snelheid van het desorptieproces, werd meestal 270°C gebruikt (meer hierover in hoofdstuk 6).

1.2.4.2 Kolom

Omdat de mobiele fase bij GC geen selectieve interacties met de te scheiden componenten aangaat, heeft de stationaire fase (type, dimensies) een grote invloed op retentiefactoren, selectiviteit, resolutie,... De karakteristieken van de stationaire fase situeren zich op twee vlakken: de chemische (samenstelling) en de fysische (dimensies). Een van de belangrijkste keuzes bij de selectie van een kolom is het soort stationaire fase. Afhankelijk van de doelverbindingen kan deze variëren van sterk apolair (b.v. polydimethylsiloxaan, PDMS) tot sterk polair (b.v. polyethyleen glycol, Carbowax). Gezien de apolariteit van de doelverbindingen werd er steeds gebruik gemaakt van kolommen met een DB-1 fase (= 100% PDMS). Er werd één test uitgevoerd met een iets meer polaire fase: DB-5 (cfr. DB-1 + 5% fenylgroepen). Dit type kolom leverde echter niet de verwachte resultaten op (zie 1.3.2). Een kolom met zuiver PDMS als stationaire fase is weinig selectief en scheidt analoge verbindingen vooral op basis van hun verschil in molaire massa/kookpunt. Omdat de organotinverbindingen als een relatief homologe reeks kunnen beschouwd worden,

was dit soort 'selectie' meer dan voldoende. Het relatief eenvoudig verband tussen retentiefactor en de molaire massa liet ook toe om voorspellingen te doen in verband met de structuur van niet-geïdentificeerde componenten (zie hoofdstuk 8).

Voor de dimensies van de kolom werd in dit werk gekozen voor fused silica capillaire kolommen met een lengte van 30 m, een inwendige diameter van 0,25 mm en een filmdikte van 0,25 μm . Met dit type kolom werden in het verleden goede resultaten bekomen zodat er geen nood was om wijzigingen aan te brengen.

Uit de Van Deemter vergelijking blijkt dat de gassnelheid een zeer belangrijke rol speelt bij GC. De gassnelheid wordt bepaald door:

- het soort gas
- de druk
- de temperatuur
- de kolomdimensies

In de loop van het werk werd van H_2 op He overgeschakeld. De gaschromatografen werden gebruikt in een 'constant pressure' mode. Waarbij meestal 30 psi (2,07 bar), net als in voorgaand onderzoek, als ingangsdruk werd genomen. Gezien het verschil in viscositeit tussen H_2 en He resulteerde dit ook in een verschil in gassnelheden (en bijgevolg ook retentietijden). In tabel 3.1 zijn enkele karakteristieken voor de twee gassoorten weergegeven bij 220°C, voor een verbinding met retentiefactor 5, en voor de kolommen die gebruikt werden in dit werk. De overschakeling van H_2 op He gebeurde grotendeels omwille van strengere veiligheidseisen bij de stockage van gasflessen in de laboratoria. Bovendien waren de voordelen van H_2 relatief beperkt binnen de totale analyse.

Uit deze tabel blijkt dat er voor He vrij dicht bij de optimale omstandigheden werd gewerkt. Voor H_2 was de gebruikte gassnelheid bijna het dubbele van de optimale. Toch was de inlevering van het theoretisch aantal platen relatief beperkt (dankzij de vlakke Van Deemter curve voor H_2) in verhouding tot de winst in snelheid. De bovenstaande berekeningen zijn gebaseerd op een isotherme werking van de GC. In dit werk werd echter steeds temperatuurprogrammatie toegepast. In de praktijk wordt

de retentietijd in dergelijke situatie veel meer bepaald door de heersende temperatuur dan door het soort gas (zie 1.2.4.3 en 1.3.3).

Tabel 3.1: Vergelijking van H₂ en He als GC-draaggas.

	H ₂	He
Gasdebiet bij 30 psi (mL/min)	2,93	1,33
Theoretisch aantal platen N bij 30 psi	103 000	133 000
Retentietijd (min) bij 30 psi	3,0	6,6
Optimaal gasdebiet (mL/min)	1,76	1,18
Optimale gasdruk (psi)	17,4	26,2
N bij optimaal gasdebiet	136 000	136 000
Retentietijd bij optimaal gasdebiet (min)	5,0	7,5

1.2.4.3 Oven

De kolom bevindt zich steeds in een oven waarvan de temperatuur nauwkeurig kan gecontroleerd worden. Dit is van groot belang omdat de temperatuur een van de meest cruciale factoren is in het hele chromatografische proces. De retentiefactor k van een verbinding is recht evenredig met de partiticoëfficiënt K . Het verband tussen deze laatste en de temperatuur T wordt uitgedrukt door de volgende vergelijking:

$$\ln K = - \frac{\Delta H}{RT} + C$$

Waarbij C een constante is die verband houdt met de entropie en ΔH de warmte voorstelt die vrijkomt bij interactie met de stationaire fase (condensatie + oplossing). Aangezien ΔH een negatief teken draagt en T in de noemer staat, betekent dit dat K , en dus ook k , exponentieel afneemt met de temperatuur. In de praktijk vindt men voor een homologe reeks, bij constante temperatuur, vaak een lineair verband tussen het logaritme van de retentietijd en het aantal koolstofatomen (n).

$$\ln k \sim n$$

(T constant)

Door het temperatuurprogramma nauwkeurig te kiezen kan men er voor zorgen dat de piekverbreding door het chromatografisch proces relatief constant is voor alle pieken. Dit komt omdat onder bepaalde omstandigheden de pieken een vergelijkbare 'reistijd' in de mobiele fase zullen hebben, het enige verschil is dat ze 'de reis' op verschillende tijdstippen aanvatten. In dergelijk geval kan men de scheiding ook beschouwen als een selectief verdampen van een reeks verbindingen.

Het spreekt voor zich dat de situatie nog complexer wordt wanneer verschillende snelheden waarmee de temperatuur toeneemt ('ramps') worden gebruikt en/of wanneer temperatuurplateaus worden gebruikt.

Naast het effect op de scheiding kan de temperatuur ook een belangrijke rol spelen bij de introductie van het monster. In dit werk werd regelmatig gebruik gemaakt van het 'solvent-effect'. Door de aanvangstemperatuur beneden het kookpunt van het solvent te houden, condenseert dit nadat het uit de veel hetere injectiekamer komt. Gedurende een bepaalde periode (meestal een tot twee minuten) vangt deze vloeistoffilm verbindingen op die uit de injectiekamer komen, waardoor er focussering plaatsvindt. Indien er geen solvent gebruikt wordt -zoals bij SPME- kan er ook condensatie van verbindingen op de kolom plaatsvinden. In dat laatste geval spreekt men dan eerder van thermische focussering.

1.2.4.4 Detector

In dit werk werd de GC door middel van een transferlijn (zie hoofdstuk 4) gekoppeld aan een ICP-MS die als Sn-detector dienst deed. Meestal wordt GC echter gebruikt met standaard detectoren zoals FID (vlam ionisatie), TCD (thermische conductiviteit), ECD (electron capture), MS (massa spectrometrie),... Voor meer informatie over deze algemene detectoren wordt naar de literatuur verwezen.

1.2.5 Perkin Elmer Autosystem GC

Het grootste deel van dit werk werd uitgevoerd met de Perkin Elmer Autosystem GC (figuur 3.8). Dit toestel werd steeds gebruikt in combinatie met de Perkin Elmer SCIEX Elan 5000 ICP-massaspectrometer. De Autosystem GC is met relatief weinig technische snufjes uitgerust en laat enkel toe om de temperatuur van oven en injector en het openen/sluiten van de split valve elektronisch te regelen. Het instellen van ingangsdruk en split flow gebeurt manueel. Het toestel kan enkel onder 'constant pressure' omstandigheden werken. De maximale snelheid van temperatuursstijging bij deze GC bedraagt 45°C/min.



Figuur 3.8: De Perkin Elmer Autosystem GC.

1.2.6 Hewlett Packard 5890 series II

De tweede combinatie die in dit werk gebruikt werd, bestond uit een koppeling van een Hewlett Packard 5890 series II gaschromatograaf (figuur 3.9) met de HP 4500



Figuur 3.9: De Hewlett Packard 5890 GC.

ICP-massaspectrometer. Qua functies is deze GC sterk vergelijkbaar met de Autosystem GC. De HP beschikt echter over een automatische drukregeling die eveneens toelaat om onder 'constant flow' mode te werken. Naar analogie met de Perkin Elmer GC werd er echter steeds onder 'constant pressure' gewerkt.

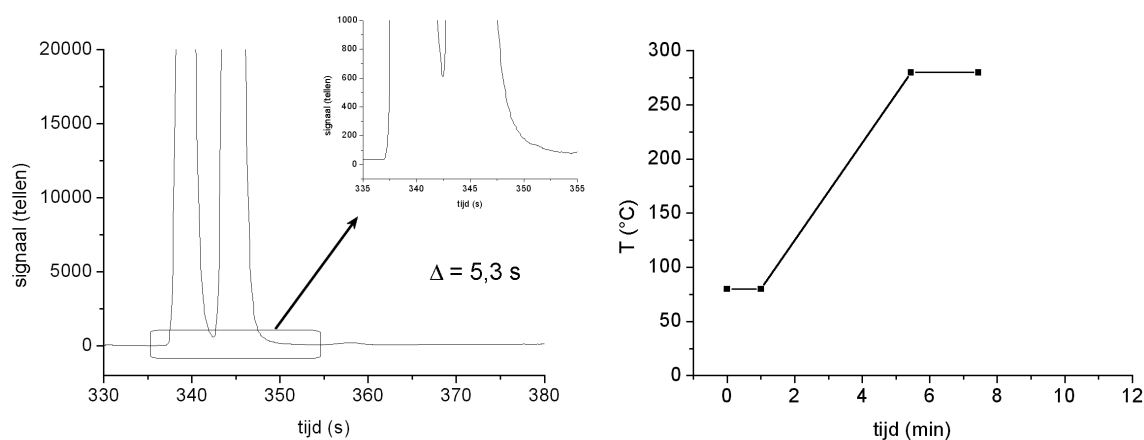
De microprocessor van het toestel kan geprogrammeerd worden met een maximale snelheid van temperatuurstijging van $70^{\circ}\text{C}/\text{min}$. In de praktijk is dit echter enkel haalbaar bij lage temperatuur en voor kleine stijgingen. Daarom werd zelden een 'ramp' groter dan $45^{\circ}\text{C}/\text{min}$ gebruikt.

Voor een deel van het onderzoek werd de HP 5890 gebruikt in combinatie met stir bar sorptive extraction (SBSE) en headspace sorptive extraction (HSSE). Voor beide technieken werd een aangepast monsterintroductiesysteem met thermische desorptie en cryogene trap gebruikt. Dit systeem zal in hoofdstuk 8 aan bod komen.

1.3 Optimalisatie

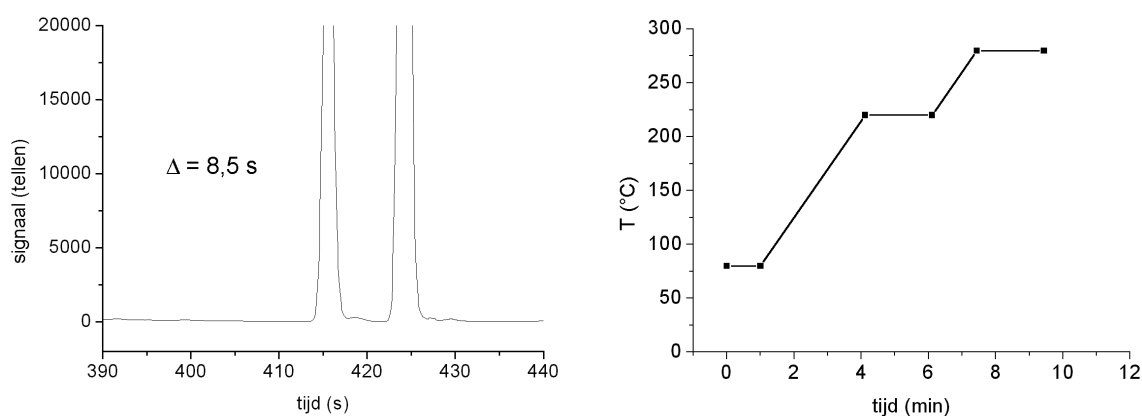
1.3.1 Ovenprogramma

De relatieve verschillen in vluchtigheid binnen een reeks organotinverbindingen zijn meestal vrij groot. Hierdoor kan voor de GC meestal het snelst mogelijke ovenprogramma gebruikt worden ($45^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Bij de scheiding van trifenylethyltin en tricyclohexylethyltin bleek er echter overlap tussen de twee betreffende pieken te zijn (figuur 3.10 a). In plaats van de temperatuur 'ramp' minder steil te maken -wat tot een aanzienlijk tijdsverlies zou leiden- werd besloten om een isotherm stuk in te lassen in het ovenprogramma.

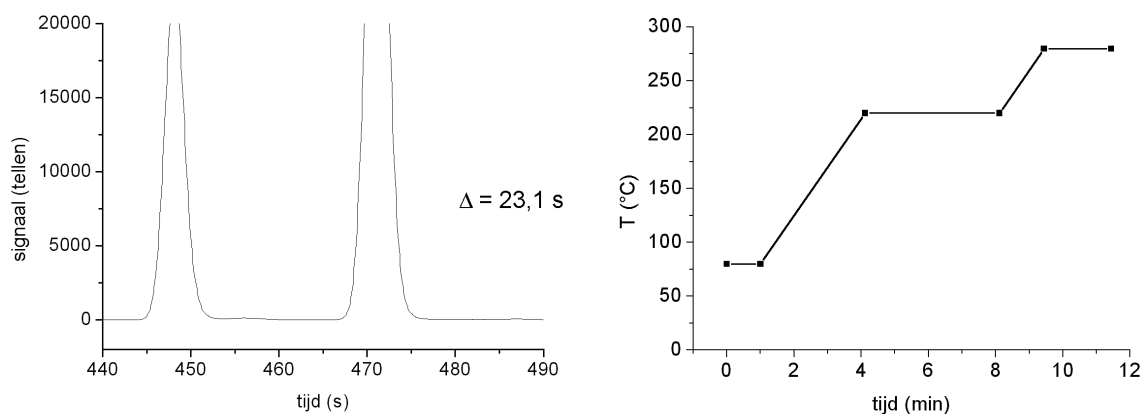


Figuur 3.10: Chromatogram en ovenprogramma zonder temperatuurplateau bij 220°C .

Wanneer men de temperatuur constant houdt bij een bepaalde 'kritische waarde', bekomt men het grootste effect. Bij deze 'kritische temperatuur' van een koppel verbindingen is het verschil in affiniteit voor de stationaire fase het grootst. Tijdens het temperatuurplateau zal de meest vluchtige verbinding een voorsprong kunnen uitbouwen ten opzichte van de minst vluchtige. Deze laatste blijft als het ware 'steken' in de stationaire fase. Na heel wat 'trial-and-error' bleek dat een plateau bij 220°C het grootste effect had op de scheiding van TPhT en TCT. Door de lengte van het plateau te variëren kon het verschil in retentietijd eenvoudig gecontroleerd worden. Het effect van een plateau van twee en vier minuten is zichtbaar in figuur 3.11 en 3.12. Het was zinloos om de temperatuur van het plateau meer dan vier minuten aan te houden omdat de minst vluchtige verbinding (TCT) binnen die tijd de kolom al verlaten had.

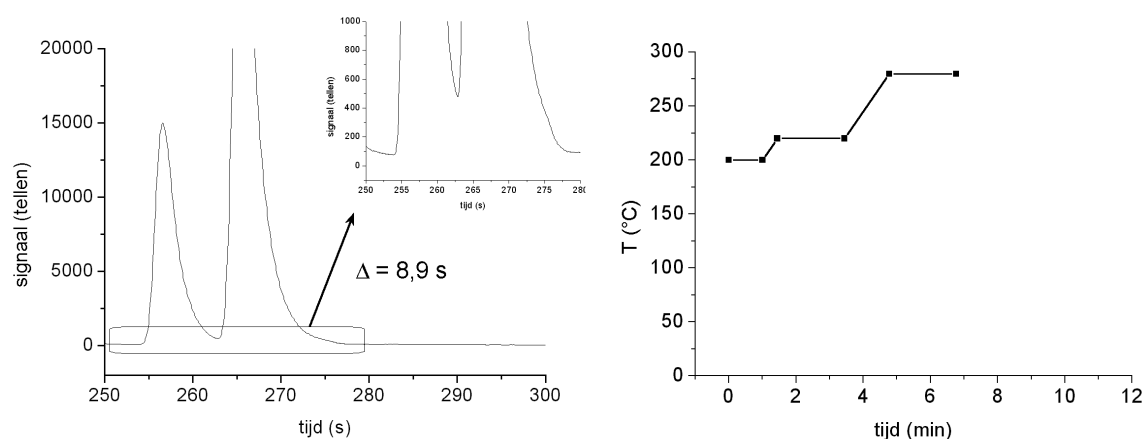


Figuur 3.11: Chromatogram en ovenprogramma met temperatuurplateau van 2 min bij 220°C.



Figuur 3.12: Chromatogram en ovenprogramma met temperatuurplateau van 4 min bij 220°C.

Om de tijd die verloren werd door het temperatuurplateau in te halen, werd getracht het ovenprogramma vanaf een hogere temperatuur te starten. Hoewel de retentietijd hierdoor aanzienlijk verkort werd, zorgde deze hogere starttemperatuur (200°C) voor een grotere bandverbreding door tailing (figuur 3.13). Het optreden van tailing was zelfs nog veel meer uitgesproken voor meer vluchtige verbindingen dan TPhT en TCT. De verklaring voor dit effect is waarschijnlijk te zoeken in het feit dat er veel minder thermische focussing optrad dan bij 80°C. Een starttemperatuur van 80°C was ook voordelig wanneer er in plaats van met SPME, met gewone injectie gewerkt werd. In dat laatste geval werd steeds gebruik gemaakt van iso-octaan (kookpunt 99°C). Een starttemperatuur van circa 20°C beneden het kookpunt van het solvent geeft namelijk aanleiding tot focussing door het solvent-effect (zie hoger).



Figuur 3.13: Chromatogram en ovenprogramma met starttemperatuur van 200°C en temperatuurplateau van 2 min bij 220°C.

Voor verdere optimalisatie en bepalingen waarbij de scheiding van TPhT en TCT een rol speelde, werd meestal gestart vanaf 80°C en werd een temperatuursplateau van een of twee minuten bij 220°C gebruikt.

1.3.2 Stationaire fase

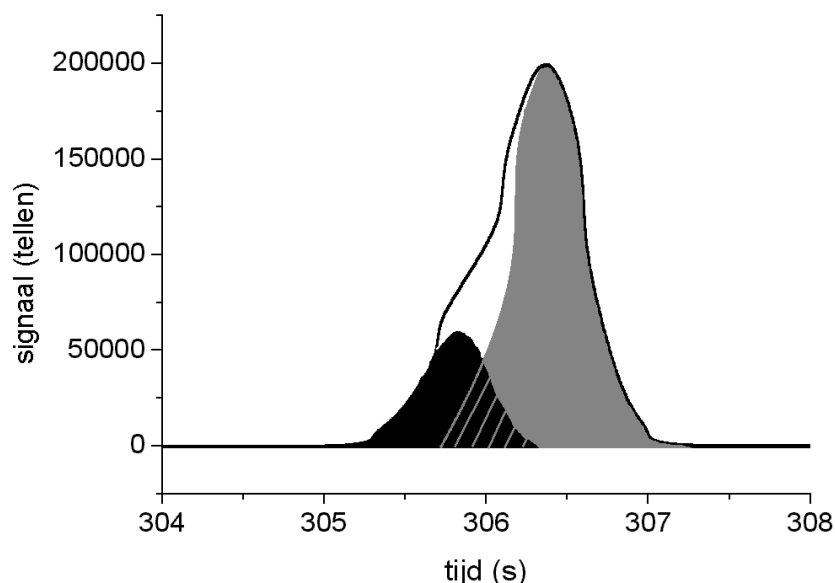
Omdat uit de literatuur bleek dat regelmatig bepalingen van organotinverbindingen worden uitgevoerd met een DB-5 stationaire fase, werd het effect hiervan ook in dit werk onderzocht. Het verschil met een DB-1 fase, die voor 100 % uit PDMS bestaat,

is dat 5% van de methylgroepen vervangen is door fenylgroepen (DB-5). Het toevoegen van de fenylgroepen zorgt voor een lichte verhoging in polariteit. Een DB-1 fase is weinig selectief en scheidt verbindingen vooral op basis van kookpunt. Een DB-5 fase is grotendeels vergelijkbaar met een DB-1, maar vertoont een iets grotere selectiviteit voor verbindingen met aromatische groepen. De verschillen op de retentietijden van TPhT en TCT tussen een DB-1 en een DB-5 kolom bij verschillende ovenprogramma zijn weergegeven in tabel 3.2.

Tabel 3.2: Verschil in retentietijden van TPhT en TCT voor kolommen met een DB-1 en een DB-5 stationaire fase en voor twee verschillende ovenprogramma's.

Ovenprogramma		Stationaire fase		
80°C(1 min) ⇒ 290°C(2 min)		DB-1	DB-5	Δ (DB-1-DB-5)
	TPhT	339,2 s	305,9 s	33,3 s
	TCT	344,5 s	306,4 s	38,1 s
	Δ (TCT-TPhT)	5,3 s	0,5 s	
80°C(1 min) ⇒ 220°C(2 min) ⇒ 290°C(2 min)		DB-1	DB-5	Δ (DB-1-DB-5)
	TPhT	415,6 s	347,0 s	68,6 s
	TCT	424,1 s	347,0 s	77,1 s
	Δ (TCT-TPhT)	8,5 s	0,0 s	

Uit deze tabel blijkt dat de selectiviteit ten opzichte van de aromatische groepen van TPhT in het nadeel speelde van de scheiding. De grotere affiniteit van TPhT voor de stationaire fase bracht de twee verbindingen dicht bij elkaar. Wanneer er geen temperatuurplateau gebruikt werd, was er een klein verschil in retentietijd tussen de twee verbindingen. In een chromatogram was dit te zien als een piek met een verhoogde schouder (zie figuur 3.14). Op basis van de vorm van de geregistreeerde sompiek werd onder de curve een vermoeden van de twee aparte pieken getekend. In het geval er met een temperatuursplateau van twee minuten werd gewerkt, was er helemaal geen verschil in retentietijd zichtbaar en kon zelfs geen vervorming van een piek waargenomen worden.



Figuur 3.14: Sompiek van TPhT (zwart) en TCT (grijs) op een kolom met DB-5 fase.

Na het bekomen van bovenstaande resultaten werd terug op de DB-1 kolom overgeschakeld. Er werden geen verdere pogingen ondernomen met andere kolommen. Uit het voorgaande blijkt duidelijk dat het gebruiken van een DB-5 fase een zeker gevaar inhoudt bij de bepaling van TPhT (b.v. indien TCT in het monster aanwezig zou zijn). Bovendien kan TCT op een dergelijke kolom niet gebruikt worden als inwendige standaard (zie verder), wat onder bepaalde omstandigheden voor extra problemen kan zorgen.

1.3.3 Draaggas

In de loop van het onderzoek werd er overgeschakeld van H_2 op He als draaggas voor de GC (zie 1.2.4.2). In vergelijking met het minder viskeuze H_2 zorgde He bij gelijke ingangsdruk (30 psi) voor een tragere gasstroom. Het effect op de retentietijden van TPhT en TCT is voorgesteld in tabel 3.3. Zoals verwacht waren de retentietijden bij gebruik van He hoger dan voor H_2 (ca. 18 %). Rekening houdend met het feit dat een volledige cyclus van de oven (= temperatuurprogramma + afkoelen + stabiliseren) bijna een kwartier duurt, was het tijdsverlies van iets meer dan een minuut niet echt dramatisch.

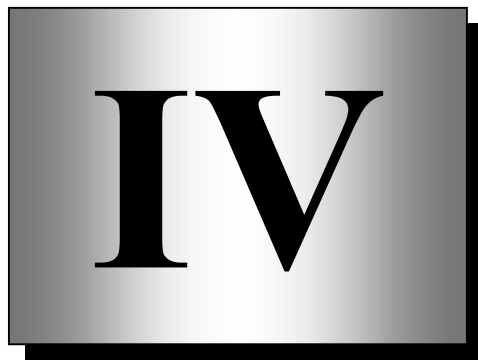
Tabel 3.3: Retentietijden (in seconden) van TPhT en TCT bij gebruik van H₂ en He als GC-draaggas (constant pressure: 30 psi, ovenprogramma met temperatuurplateau van 2 min bij 220°C)

	H ₂	He	Δ (He-H ₂)
TPhT	415,6	489,5	73,9
TCT	424,1	499,8	75,7
Δ (TCT-TPhT)	8,5	10,3	

1.4 Referenties hoofdstuk 3

•	Martin, 1941	Martin AJP en Synge RLM, BIOCHEM J, 1941 , 35, 1358-1368
•	James, 1952	James AT en Martin AJP, BIOCHEM J, 1952 , 50, 679-690
•	Verbeek, 1996	Verbeek F, Syllabus "Analytische Scheidingsmethoden", 1996 , Universiteit Gent
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, Doctoraatsthesis, 1998 , Universiteit Gent
•	Bruner, 1993	Bruner F, Gas Chromatographic Environmental Analysis, 1993 , VCH Publishers Inc., New York, VS
•	Guiochon, 1973	Guiochon G en Pommier C, Gas Chromatography in Inorganics and Organometallics, 1973 , Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, VS
•	Hyver, 1989	Hyver KJ en Sandra P, High Resolution Gas Chromatography, 1989 , Hewlett Packard

Hoofdstuk



TRANSFERLIJN

*Vroeger dacht ik dat 90% van de mensen te stom was om te helpen donderen,
nu zit ik al aan 98 á 99%... (H. Brusselmans)*

1.1 Inleiding

Bij de koppeling van een chromatografisch systeem aan een externe detector is het van essentieel belang dat er tussen de twee systemen zo weinig mogelijk extra bandverbreding optreedt. Omwille van de dimensies van de meeste ICP-MS toestellen is de afstand tussen GC en ICP vaak aanzienlijk (ca. 1 m). Bandverbreding in deze transferzone was (en is) een van grootste problemen bij GC-ICP-MS. In eerste instantie zullen de oorzaken van dit proces behandeld worden. Daarna zullen de koppelingen aan bod komen.

Bij de aanvang van dit werk werd gebruik gemaakt van de aanwezige transferlijn die door Van Tittelboom en De Smaele werd ontwikkeld [De Smaele, 1998]. In de loop van dit onderzoek werden vijf nieuwe transferlijnen gebouwd. Twee ervan waren bestemd voor eigen gebruik (één voor de Perkin Elmer combinatie en één voor de Hewlett Packard combinatie), de drie andere waren bestemd voor derden. Bij de constructie van de 'nieuwe' transferlijnen werden enkele belangrijke wijzigingen in het concept aangebracht. Naast een korte beschrijving van de 'oude' transferlijn zullen de verschillende aanpassingen die werden aangebracht en hun effecten beschreven worden. Aansluitend zullen enkele karakteristieken en bedenkingen in verband met de 'nieuwe' transferlijn vermeld worden.

Op het einde van dit hoofdstuk zullen twee transferlijnen aan bod komen die niet in dit werk werden gebruikt, maar toch het vermelden waard zijn. Enerzijds zal de opmerkelijke transferlijn die gebouwd werd aan de universiteit van Oviedo, kort beschreven worden. Anderzijds zal de eerste commercieel verkrijgbare ICP-MS transferlijn van de firma Agilent kort aan bod komen.

1.1.1 Bandverbreding bij GC-ICP-MS

De totale bandverbreding van een GC-ICP-MS systeem bestaat uit verschillende bijdragen en kan voorgesteld worden als:

$$\sigma^2_{\text{tot}} = \sigma^2_{\text{kolom}} + \sigma^2_{\text{injectie}} + \sigma^2_{\text{extern}}$$

Het spreekt voor zich dat men steeds de verschillende bijdragen tot een minimum zal proberen te beperken. Zeker in het geval van CGC zou het zonde zijn om de bekomen resolutie te zien verloren gaan alvorens de doelverbindingen de detector bereiken.

Een van de belangrijkste oorzaken van externe bandverbreding is condensatie van de doelverbindingen tussen GC en ICP. Zolang de verbindingen zich in de gasfase bevinden, bewegen ze zich zeer snel voort en kan er relatief weinig extra bandverbreding ontstaan. Eens ze, onder invloed van een lagere temperatuur, condenseren, treedt er aanzienlijke vertraging op met extra bandverbreding tot gevolg. Naast de condensatie van doelverbindingen kunnen ook matrixcomponenten voor problemen zorgen. De condensatie van deze verbindingen (vetten, oliën,...) kan op bepaalde plaatsen in de koppeling voor de ongecontroleerde vorming van een extra fase zorgen. Daar waar de condensatie van doelverbindingen meestal onmiddellijke gevolgen heeft, zijn de gevolgen van condensatie van matrixcomponenten pas na herhaaldelijk gebruik merkbaar [De Smaele, 1998], [Vazquez Pelaez, 2000].

Naast het effect van de temperatuur van een koppeling tussen GC en ICP, spelen ook de dimensies van de transferlijn en de tijd gedurende dewelke de componenten in de transferlijn verblijven een belangrijke rol. Snel transport binnen een klein volume is sterk aangewezen om bandverbreding te voorkomen.

1.2 Koppelingen

1.2.1 Historiek

Ebdon et al. publiceerden in 1992 de eerste melding van een koppeling tussen CGC en ICP-MS [Kim, 1992]. Hun transferlijn, die aan de universiteit van Plymouth ontwikkeld werd, bestond uit een relatief dikke aluminium staaf (\varnothing 2,5 cm) met een smalle centrale gang (i.d. 1 mm) waardoor de capillaire kolom liep. Het geheel was omwikkeld met verwarmingstape. Aan het uiteinde van de staaf liep het capillair verder in een roestvrijstalen buis die eindigde in een aangepaste toorts. Op dezelfde plaats werd rond de buis (onverwarmd) Ar toegevoegd. In de publicaties over deze transferlijn werden geen nadelen vermeld. Uit een latere publicatie van Ebdon bleek dat er toch problemen waren met koude zones (cold spots) in de transferlijn [Ebdon, 1994]. In diezelfde publicatie werd een nieuw soort transferlijn beschreven waarbij over de volledige lengte een roestvrijstalen buis gebruikt werd. In plaats van verwarmingstape te gebruiken werd de buis resistief verwarmd. Het geheel werd geïsoleerd met glaswol. De belangrijkste verbetering was ongetwijfeld het feit dat het Ar-draaggas voorverwarmd werd alvorens het in contact kwam met de transferlijn.

Aan het laboratorium voor analytische scheikunde van de Universiteit Gent werd iets later dan in Plymouth ook gestart met onderzoek in verband met de koppeling van GC en ICP-MS. Aanvankelijk werden er tests uitgevoerd met een aangepaste GC-MS transferlijn. Omdat de resultaten niet bevredigend waren, werd zelf met de bouw van een nieuwe transferlijn gestart. In een eerste poging werd een model gebouwd dat te vergelijken was met de verbeterde transferlijn van Ebdon. Hoewel de resultaten aanvankelijk zeer goed waren, bleken er na verloop van tijd problemen op te treden. Na meermaals injecteren van milieumonsters ontstond steeds meer bandverbreding. Dit was waarschijnlijk te wijten aan condensatie van hoogkokende bestanddelen in het onverwarmde deel van de transferlijn dat zich in de toorts bevond. Om dit probleem te vermijden, werd een speciale constructie bedacht. De resulterende transferlijn zal in het volgende punt kort beschreven worden.

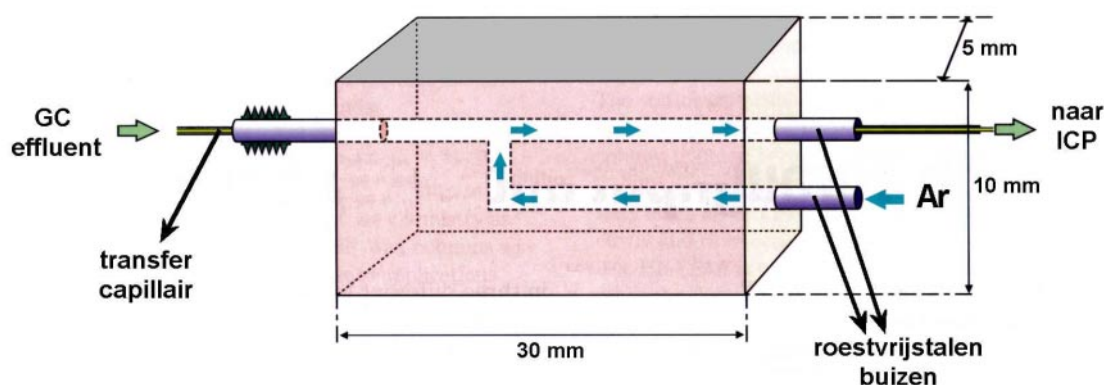
1.2.2 Oude transferlijn

De transferlijn die door Van Tittelboom en De Smaele ontwikkeld werd (figuur 4.1), bestond uit drie verwarmde delen op basis van roestvrijstalen buizen. Een eerste buis zorgde voor de verwarming van een fused silica transfercapillair dat liep van binnenin de GC tot een



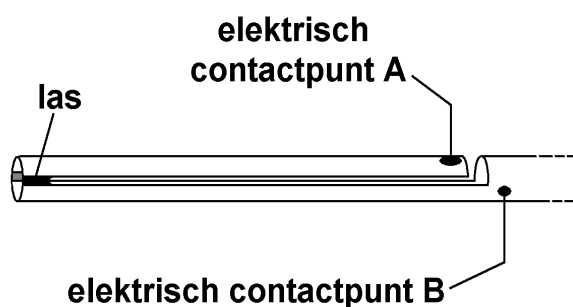
Figuur 4.1: De 'oude' transferlijn die bij het begin van het onderzoek gebruikt werd.

tweetal centimeter voor het plasma. Het transfercapillair had dezelfde dimensies als de kolom, was gedesactiveerd, maar bevatte geen stationaire fase. Binnenin de GC was het met de kolom verbonden door middel van een press-fit connector. Een tweede, spiraalvormige buis werd gebruikt om het ICP-draaggas (Ar) voor te verwarmen. Zonder deze voorverwarming zou het Ar een koude zone creëren op de plaats waar het wordt gemengd met het GC-effluent. De twee buizen werden gekoppeld door middel van een T-stuk (figuur 4.2) dat zich in de ovenwand van de GC bevond. Het voordeel van dit soort koppeling is dat het Ar over de volledige lengte van het transfercapillair stroomt, waardoor beide gasstromen tot dezelfde temperatuur kunnen komen.

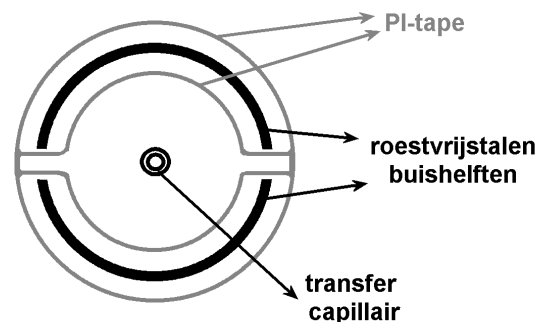


Figuur 4.2: Het T-stuk dat de Ar-lus en centrale verwarmingsbuis koppelt.

Het deel van de transferlijn dat in de toorts zat (figuur 4.3 a en 4.3 b), werd apart verwarmd. Het bestond uit twee halve stukken buis, die door polyimide (PI) tape elektrisch van elkaar geïsoleerd werden. De twee stukken maakten enkel contact aan het uiteinde (kant van het plasma), waar ze aan elkaar gelast waren. Het geheel werd ook rondom met polyimide tape omwikkeld voor extra isolatie en om gaslekken te vermijden.



Figuur 4.3 a: Zij-aanzicht van het uiteinde van de transferlijn zonder PI-tape.



Figuur 4.3 b: Doorsnede van het uiteinde van de transferlijn.

Het grote voordeel van deze constructie was dat het volledige pad, van in de GC tot in de toorts, verwarmd was. Hierdoor kon condensatie, zowel van doelverbindingen, als van matrixcomponenten efficiënt bestreden worden. De nadelen van deze transferlijn waren:

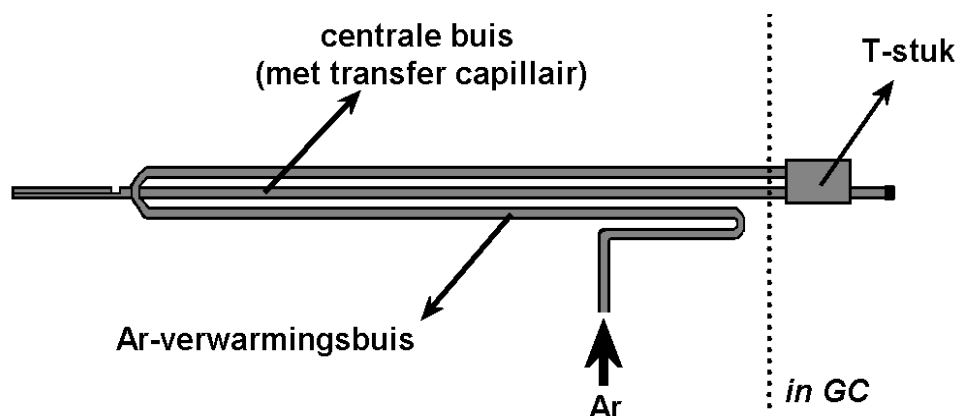
- de beperkte stevigheid, met meermaals breuken van de centrale buis tot gevolg
- onevenwichtige temperatuurverdeling in de zone van de Ar-spiraal (waardoor het naburige deel van het transfercapillair te warm werd)
- complexe elektrische opbouw door het gebruik van twee stroomcircuits, een Variac (variabele transformator) en scheidingstransformator
- inefficiënt energiegebruik

1.2.3 Nieuwe transferlijn

1.2.3.1 Algemeen

In de loop van dit werk werden verschillende transferlijnen gebouwd waarbij meerdere aanpassingen aan het oude concept geïntroduceerd werden. Voor de eenvoud zal de bespreking hier beperkt worden tot de meest recente transferlijn die voor eigen gebruik werd gemaakt.

Een eerste belangrijke verandering was de vorm en plaatsing van de buis die het Ar voorverwarmt. In plaats van ze op te rollen tot een spiraal, wat een lokale oververhitting veroorzaakte, werd ze ingebouwd in de transferlijn zelf. Daarvoor werd een langgerekte U-vorm gebruikt die parallel aan de centrale buis liep (figuur 4.4).



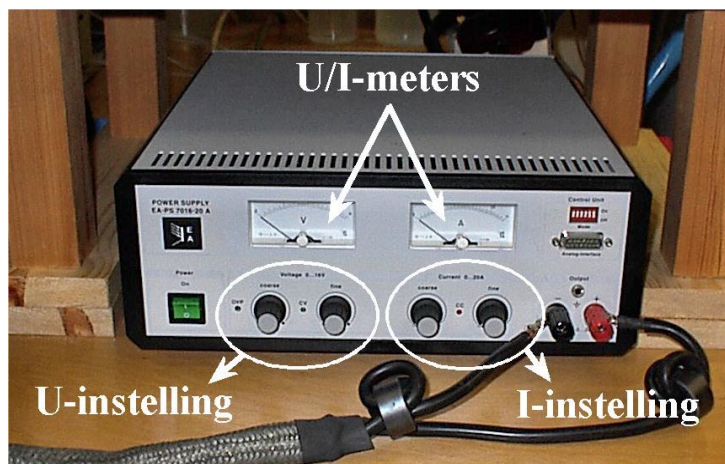
Figuur 4.4: Schematische voorstelling van de buizenconstructie van de 'nieuwe' transferlijn.

De voordelen van deze aanpassing zijn:

- efficiëntere warmteafgifte, want de Ar-lus draagt bij tot de verwarming van de centrale buis
- minder isolatiemateriaal nodig
- constante temperatuurverdeling
- grotere robuustheid (want ondersteuning door drie buizen in plaats van één)
- betere handelbaarheid van de transferlijn door de compactere vorm en de kleinere massa

Een tweede aanpassing werd uitgevoerd op het vlak van de resistieve opwarming. Bij de oude transferlijn werden twee aparte stroomkringen gebruikt. In de transferlijn die gemaakt werd voor de Elan 5000 werden de twee stroomkringen samengevoegd zodat er slechts één kring meer overbleef. Dit leek in eerste instantie niet zo evident. Bij de oude transferlijn werd het deel in de toorts apart verwarmd omdat er relatief meer vermogen nodig was om dit korte, nauwelijks geïsoleerde stuk te verwarmen. Door een weloverwogen keuze van het aantal windingen van de transformator, kon er toen voor gezorgd worden dat er, ondanks deze mindere isolatie, een relatief constante verwarming was over de volledige transferlijn. In de praktijk bleek het 'vermogen per lengte-eenheid' ongeveer drie keer groter te zijn dan in de rest van de transferlijn. Het samenvoegen van de twee stroomkringen zorgt ervoor dat de stroom door de kring overal constant is. Door de speciale constructie van het deel in de toorts krijgt dit stuk, in verhouding met de rest van de transferlijn, een vier keer groter vermogen per lengte-eenheid te verwerken. Er is een verdubbeling van de weerstand -en dus ook van de spanningsval- omdat de buis gehalveerd is en een bijkomende verdubbeling omdat er twee helften op elkaar liggen. Dit gegeven bleek zeer geschikt te zijn om de beperkte isolatie (enkel PI-tape) van dit stuk van de transferlijn te compenseren. Het gevolg van deze aaneensluiting van de twee kringen was dat er slechts twee contactpunten meer nodig waren: één op de plaats waar het Ar de buis binnenkwam en één op de bovenste helft van de punt van de transferlijn (contactpunt A in figuur 4.3 a). Deze eenvoudige stroomkring liet ook toe om een andere voeding te gebruiken (zie volgende paragraaf).

De derde verandering situeerde zich op het vlak van de spanningsbron. In plaats van een vrij log systeem te gebruiken op basis van wisselspanning, met een scheidingstransformator en een Variac, werd er overgeschakeld op een gestabiliseerde gelijkspanningsvoeding (figuur 4.5). Hiermee kan men, door een intern feedback mechanisme, ofwel de spanning U , ofwel de stroom I van een stroomkring constant houden. In dit werk werd steeds de stroom constant gehouden. De voornaamste drijfveer voor de omschakeling was tijdwinst bij de constructie. Tot dan toe was het maken van een voedingsbron namelijk steeds een vrij arbeidsintensief werk geweest (met o.a. het manueel wikkelen van de transformatoren).



Figuur 4.5: De gestabiliseerde voeding van de 'nieuwe' transferlijn.

Een bijkomend voordeel van deze voeding was echter dat stroom en potentiaal continu konden worden afgelezen. Hierdoor kon vastgesteld worden of het systeem (transferlijn + kabels + voeding) problemen had met RF-opvang van het ICP. Dit kan namelijk leiden tot aanzienlijke verstoring van de spanningsbron en kan

bijgevolg de temperatuurstabiliteit nadelig beïnvloeden. RF-opvang bleek, ondanks de aarding van de voeding, aanvankelijk een probleem te zijn. Na enkele tests kon het probleem aan de hand van twee ferriet spoelen opgelost worden. Hierbij werden de kabels van de stroombron elk in een dubbele lus door een spoel geleid. De manier waarop dit interferentie door RF tegenwerkt is vrij complex en valt buiten het kader van dit werk.

De uitstekend stabilisatie van de stroombron, in combinatie met de doeltreffende afscherming van de invloeden van het ICP, zorgde voor een zeer goede temperatuurstabiliteit (zie 1.2.3.3).

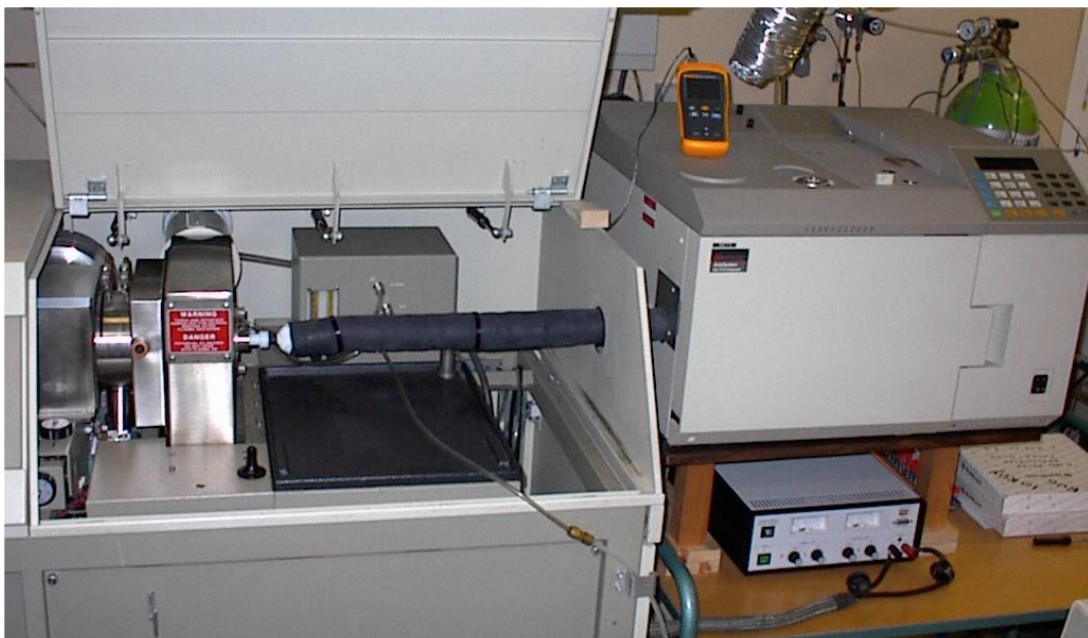
1.2.3.2 Koppeling met Elan 5000 en HP 4500

De koppeling met de Elan 5000 (figuur 4.6) zorgde, afgezien van de RF-opvang, nauwelijks voor problemen. In de zijwand van het toestel was reeds een opening aanwezig die gemaakt was voor de koppeling met de vorige transferlijn. Alhoewel er bij de koppeling met de HP 4500 (figuur 4.7) geen barrières waren die een rechtlijnige toegang tot de toorts belemmerden, bleek er aanvankelijk een groot probleem te zijn als gevolg van de automatisering van de ICP-MS. De RF-generator, matching box, toortsbox en monsterinleidingsysteem kunnen als één geheel gepositioneerd worden ten opzichte van de interface. Dit gebeurt door drie motoren en heeft als voordeel dat de afstanden tussen al deze componenten onderling

constant blijven (wat van belang is voor de Rf-generator). Het nadeel is echter dat koppeling met een extern toestel problematisch kan zijn. Bij een normale opstartprocedure wordt de hele box namelijk enkele centimeters naar achter (= weg van de interface) gebracht. Wanneer GC als introductiesysteem gebruikt wordt, zou dit, door de 'starheid' van de combinatie 'GC + transferlijn', beschadiging aan toorts, positiemotoren en/of transferlijn kunnen veroorzaken. Na overleg met Hewlett Packard werd door de ontwerpers van het toestel een speciaal commando ter beschikking gesteld om de positie van de toortsbox te blokkeren. Door middel van onderstaande opdrachten (in te geven op de 'command line' onder het subprogramma 'Instrument Control') kan men de software om de tuin leiden:

<code>scwrite: "frcd:xyz:fake on"</code>	(blokkeren)
<code>scwrite: "frcd:xyz:fake off"</code>	(ongedaan maken)

Eens de koppeling volbracht en het plasma opgestart, kan deze blokkering opgeheven worden om fijnregeling van de positie van de toorts toe te laten. Hierbij levert de aanpassing van hooguit een à twee millimeter geen problemen op.



Figuur 4.6: Koppeling van de Autosystem GC met de Elan 5000 door middel van de 'nieuwe' transferlijn.



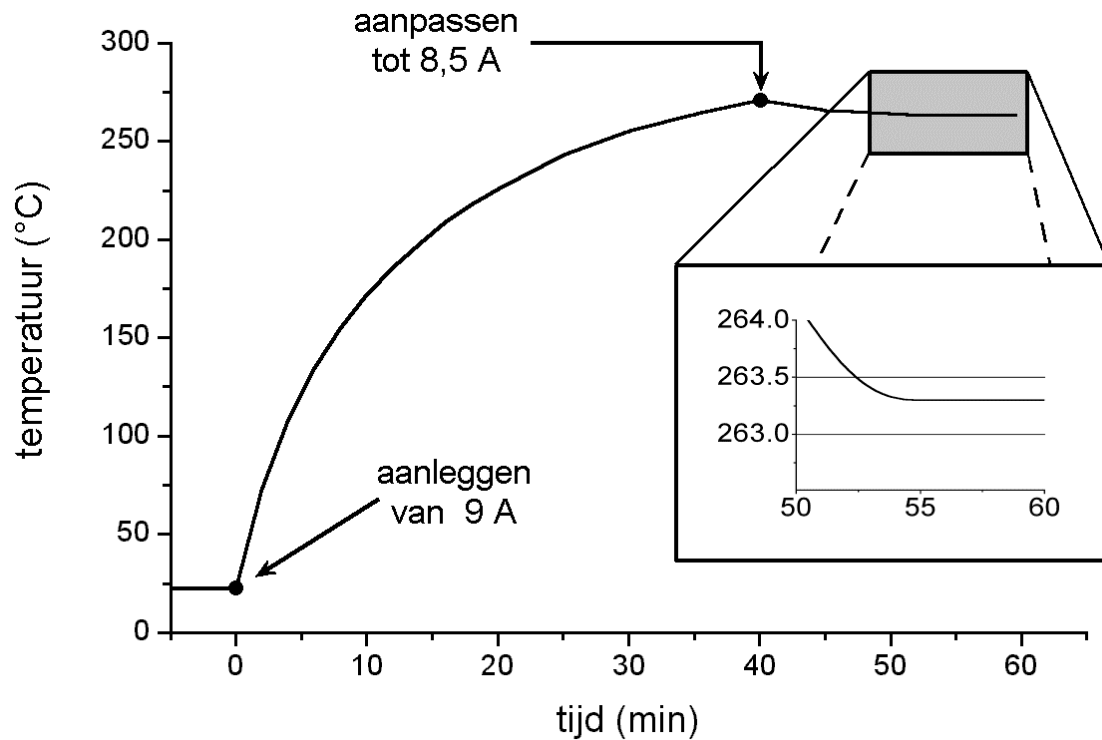
Figuur 4.7: Koppeling van de HP 5890 GC met de HP 4500.

1.2.3.3 Opwarming en temperatuurstabiliteit

Voor de opwarming van de transferlijn wordt de stroom (I) constant gehouden. Aangezien de weerstand (R) van het roestvrij staal toeneemt in functie van de temperatuur, zal de aangelegde spanning (U) ook toenemen. Een direct gevolg hiervan is dat het vermogen (P) eveneens zal toenemen. Enkele karakteristieken van het systeem zijn weergegeven in tabel 4.1. Om sneller tot een stabiele temperatuur te komen wordt aanvankelijk de stroom iets boven de richtwaarde ingesteld.

Tabel 4.1: Elektrische karakteristieken van de transferlijn bij de start, bij de maximale temperatuur en na stabilisatie.

	Start	maximum	gestabiliseerd
Temperatuur ($^{\circ}\text{C}$)	22	271	263
Stroom (A)	9	9	8,5
Spanning (V)	5,50	6,35	5,95
Weerstand (Ω)	0,61	0,71	0,70
Vermogen (W)	49,5	57,2	50,6



Figuur 4.8: Opwarmingsprofiel van de transferlijn.

In figuur 4.8 is weergegeven hoe de opwarming van de transferlijn praktisch verloopt. Eens de richttemperatuur bereikt is, kan deze tot op 0,1°C constant gehouden worden. Uit de figuur blijkt dat de temperatuur zich binnen het uur stabiliseert. Dit vormt geen groot probleem omdat het ICP-MS toestel gedurende deze periode ook kan stabiliseren. De temperatuuruitlezing is gebaseerd op de meting met een thermokoppel dat zich in het midden van de transferlijn bevindt. Om te vermijden dat er storing optreedt door het wisselend magnetisch veld van het plasma is er geen elektrisch contact tussen het thermokoppel en de roestvrijstalen buis. Het thermokoppel bevindt zich tussen de centrale buis en de omliggende isolatie (op ongeveer één millimeter van de buis). Naar de eigenlijke temperatuur binnenin het transfercapillair is het echter raden. Er valt bovendien te verwachten dat er, als gevolg van het Ar dat door de transferlijn beweegt, een temperatuurgradiënt zal bestaan.

1.2.3.4 Achtergrondsignaal

Bij alle transferlijnen die tot op heden aan het laboratorium ontwikkeld werden, wordt er een continue achtergrond van Sn vastgesteld. Deze achtergrond blijkt sterk afhankelijk te zijn van de temperatuur van de transferlijn. In tabel 4.2 is het verschil tussen de achtergrond bij een 'koude' en bij een gestabiliseerde transferlijn weergegeven. Hieruit blijkt dat de achtergrond meer dan een grootteorde verschilt bij de twee betrokken temperaturen en dat de standaardafwijking op de achtergrond bij de hoogste temperatuur meer dan drie keer groter is. De toename van de spreiding op de achtergrond heeft belangrijke gevolgen voor de detectielimiet (limit of detection, LOD). Het juiste effect op de LOD hangt af van de manier waarop de LOD berekend wordt (zie verder).

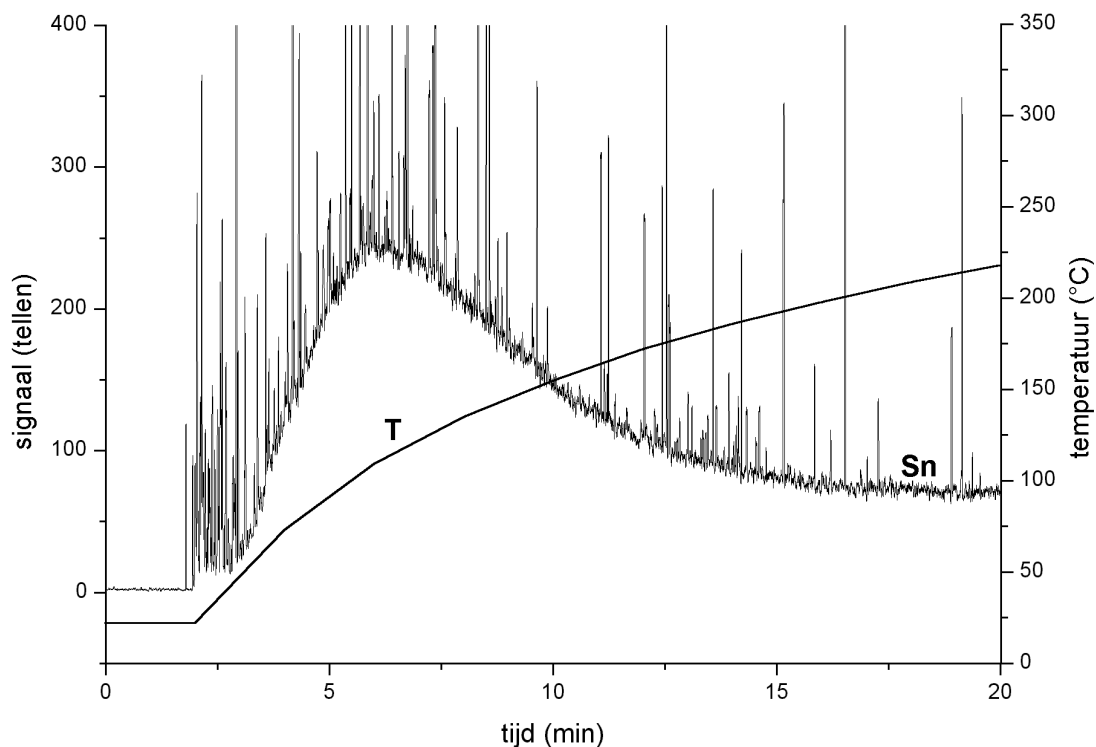
Uit de isotopenverhouding van het achtergrondsignaal blijkt dat de waargenomen achtergrond vrijwel zeker van tin -en niet van een spectrale interferentie- afkomstig is. De verhouding van $^{120}\text{Sn}/^{118}\text{Sn}$ bedroeg $1,333 \pm 0,056$ (95% confidentie-interval) en was bijgevolg niet significant verschillend van de natuurlijke verhouding 1,351.

Tabel 4.2: Achtergrondkarakteristieken op ^{120}Sn voor een 'koude' en een gestabiliseerde transferlijn.

	Koud	gestabiliseerd
Temperatuur (°C)	22	263
Gemiddelde achtergrond per datapunt (tellen)	6,6	89
Standaardafwijking op de achtergrond (tellen)	2,8	10
Dwell time (ms)	300	300
Totale meettijd (s)	300	300
Totaal aantal datapunten	825	825

De relatie tussen temperatuur en achtergrond blijkt van een vrij complexe aard te zijn. Bij het opwarmen van een koude transferlijn wordt telkens vastgesteld dat de achtergrond een maximum bereikt, maar daarna terug daalt om uiteindelijk te stabiliseren (figuur 4.9). Hieruit blijkt dat de achtergrond niet enkel bepaald wordt

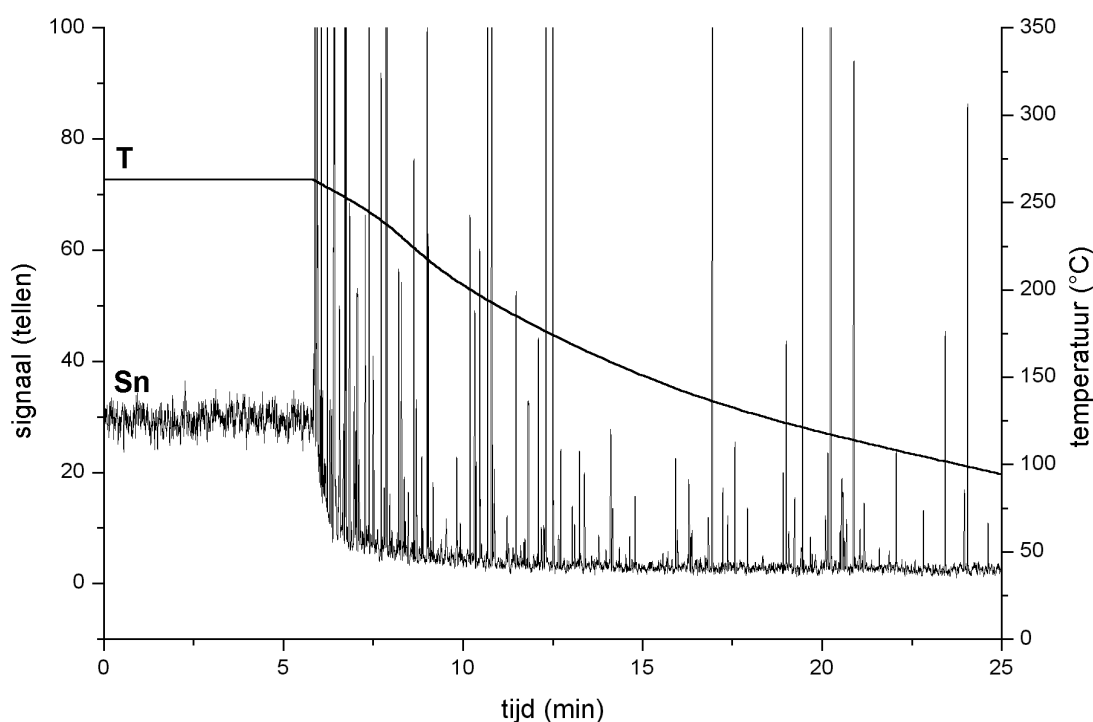
door de waarde voor de temperatuur. Mogelijk speelt de manier waarop de temperatuur verandert een rol of zijn er nog andere factoren van belang. Op dezelfde figuur is ook zeer duidelijk zichtbaar dat er naast een continue achtergrond veel spikes op het signaal optreden. Eens de temperatuur gestabiliseerd is, worden er geen spikes meer waargenomen zodat ze geen problemen vormen voor de analyse. Bij het plotseling afleggen van de stroom worden er echter terug spikes waargenomen (figuur 4.10).



Figuur 4.9: Het achtergrondsignaal van ^{120}Sn en de temperatuur van de transferlijn bij het opwarmen vanaf een koude start. (dwell time: 100 ms)

Om meer inzicht te krijgen in dit fenomeen werd een experiment uitgevoerd waarbij de stroom door de transferlijn in stappen werd gewijzigd (figuur 4.11). Daaruit bleek andermaal dat de temperatuuruitlezing niet rechtstreeks in verband staat met het achtergrondsignaal. Tijdens de opwarming bedraagt de achtergrond na zes minuten 700 tellen bij een temperatuur van 284°C . Twee minuten later is de temperatuur nog ongeveer even hoog (285°C), maar bedraagt de achtergrond nog slechts 400 tellen. Uit de figuur valt op dat er bij een wijziging van de stroom een onmiddellijke reactie is op het achtergrondsignaal (duidelijk zichtbaar bij de afkoeling). Bovendien kan ook

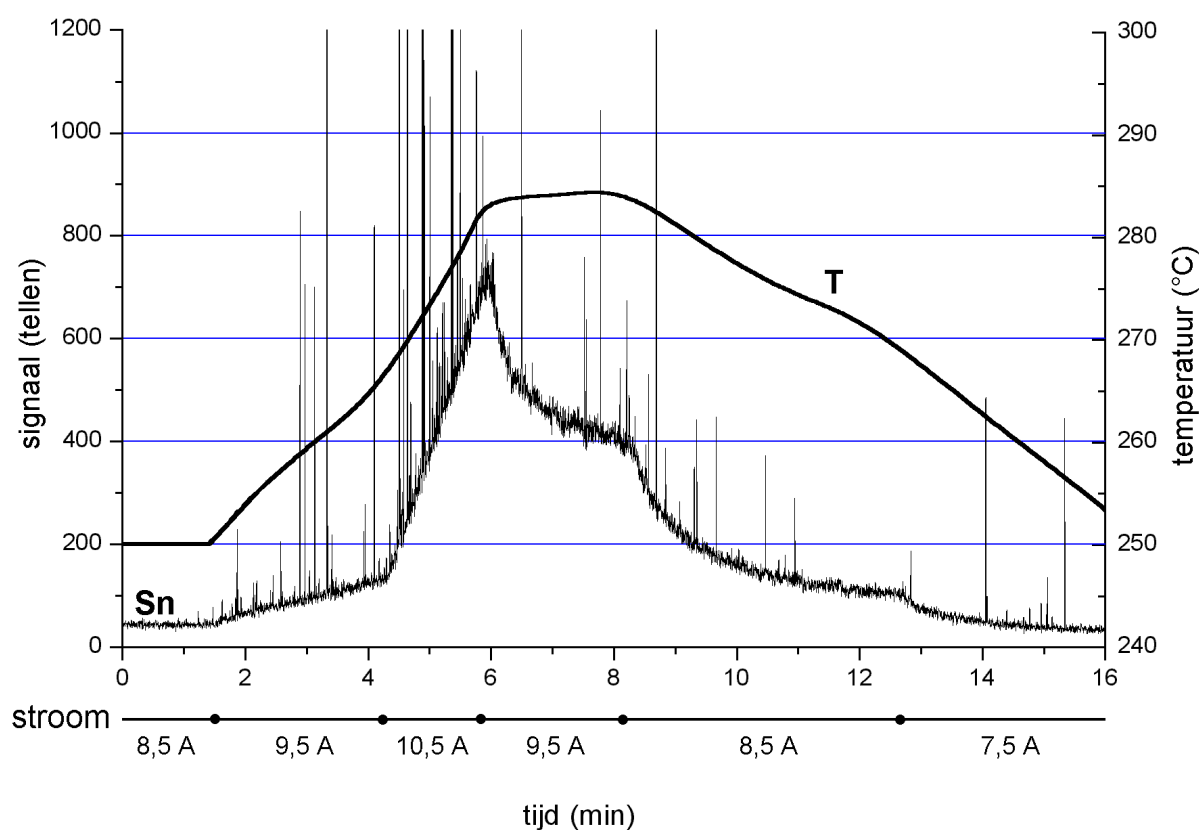
opgemerkt worden dat een minder drastische daling van de stroom aanleiding geeft tot minder spikes dan bij het experiment waarbij de stroom volledig werd afgelegd (figuur 4.10). Dat er in het temperatuurverloop geen duidelijke 'sprongen' zichtbaar zijn, zegt weinig over de 'echte' temperatuur. Enerzijds werd de temperatuur niet constant gemeten, maar werd de temperatuurcurve samengesteld op basis van een 20-tal meetpunten, waarna de punten door middel van fitting met elkaar verbonden werden. Anderzijds is er het feit dat het thermokoppel geen direct contact heeft met de centrale buis, zodat temperatuurschommelingen in de buis kunnen uitgemiddeld worden.



Figuur 4.10: Het achtergrondsignaal van ^{120}Sn en de temperatuur van de transferlijn bij het afschakelen van de stroom door een gestabiliseerde transferlijn. (dwell time: 100 ms)

Bij elke ingebruikname van een nieuwe transferlijn werd er steeds een verhoogde achtergrond vastgesteld die na verloop van tijd scheen te stabiliseren. Bij de transferlijn die voor de HP 4500 werd gemaakt, werd er bij een eerste testopstelling een achtergrond tot 500 000 tellen per seconde (counts per second, cps) waargenomen. Achteraf bleek dat de ruimtelijke verdeling van het vermogen moest worden aangepast (= relatief minder vermogen naar het stuk in de toorts) want bepaalde stukken van het transfercapillair en de isolatietape waren volledig verkoold.

De hoge achtergrond verdween na een uitgebreide reiniging. Hierbij werden de roestvrijstalen buizen grondig gespoeld met een 10% HCl-oplossing en met aceton. Vervolgens werd de buis gedurende meerdere uren sterk verhit terwijl er perslucht met een groot debiet door werd gestuurd. Het transfercapillair en de beschadigde polyimide tape werden ook vervangen. Of de achtergrond over een periode van maanden nog daalde, was moeilijk na te gaan omdat de karakteristieken van de ICP-MS binnen een dergelijke periode sterk kunnen variëren. Bovendien werd in de loop van dit werk de stroom steeds ingesteld zodat de temperatuur van de uitlezing tussen 250°C en 285°C was. Binnen deze grenzen kan de achtergrond vermoedelijk nog sterk variëren.



Figuur 4.11: Effect van stroomstappen op het achtergrondsignaal van ^{120}Sn en op de temperatuur van de transferlijn (dwell time: 100 ms).

Een vergelijking van chromatogrammen van de 'nieuwe' met de 'oude' transferlijn, leerde dat de achtergrond vijf tot tien keer lager was. Of dit te wijten was aan een afname in functie van de tijd - de oude transferlijn werd vier jaar gebruikt - is ook niet met zekerheid te zeggen. Naast de bedenking omtrent de ICP-MS karakteristieken,

speelt ook plaatsing van het thermokoppel een belangrijke rol. Omdat er een andere plaatsing van het thermokoppel werd toegepast bij de twee transferlijnen, kunnen de temperaturen moeilijk onderling vergeleken worden. De lagere achtergrond voor de oude transferlijn was mogelijk gewoon te wijten aan een lagere temperatuur in de buis.

Bovenstaande gegevens zorgen voor twee belangrijke vragen:

1. Wat veroorzaakt de continue achtergrond ?

De relatieve stabiliteit van het signaal en de bevestiging van de isotopische samenstelling wezen in de richting van een vervluchtiging van tin of een tinverbinding. Het aantal componenten dat in contact komt met de gasstroom is echter zeer beperkt:

- de roestvrijstalen buis
- het lasmateriaal
- het transfercapillair
- de polyimide tape

Geen van deze componenten wees onmiddellijk in de richting van Sn. Roestvrij staal bevat in principe geen Sn. Alhoewel er wel degelijk roestvrij staal bestaat met tincoating, bleek dat niet het geval te zijn voor het gebruikte materiaal. Het lasmateriaal dat gebruikt werd aan de tip van de transferlijn en aan het T-stuk bestond uit zuiver zilver. De aanwezigheid van tin in het zilver was onwaarschijnlijk. Zowel het transfercapillair als de polyimide tape leken aanvankelijk buiten verdenking te staan. Om het zekere voor het onzekere te nemen, werd er onderzoek uitgevoerd naar de samenstelling van het polyimide. Daarbij bleek verrassend dat het “Kapton” polyimide, dat gebruikt werd voor de isolatietape, tot 10% tinoxide (SnO en SnO_2) kan bevatten [website DuPont]. Alhoewel er niet geweten is hoe en onder welke vorm het Sn uit het polyimide kan ontsnappen lijkt het polyimide hiermee de hoofdverdachte in de zaak. Of het polyimide dat zich als bescherm laag rond het transfercapillair bevindt ook Sn bevat is momenteel nog onbekend. Vervluchtiging van tinoxide (kookpunt van 1800-1900°C) kan misschien een verklaring zijn. Mogelijk

speelt ook het warme Ar dat aan zeer hoge snelheid door de buis stroomt een rol in het transport van het Sn naar het plasma.

De drastische daling die geobserveerd werd na het reinigen van de transferlijn die bestemd was voor de HP 4500 werd waarschijnlijk veroorzaakt door het vervangen van de tape en niet zozeer door het reinigen van de buizen. Het wijzigen van de verdeling van het vermogen heeft er vermoedelijk voor gezorgd dat de lokale oververhitting van het polyimide in de toorts sterk gereduceerd werd.

Gesteld dat de tape 10% tin oxide bevat, dan vormt het hiermee een quasi onuitputtelijke bron voor de waargenomen achtergrond. De massa tape die aan zeer hoge temperatuur wordt blootgesteld 'en' in contact komt met de Ar-stroom wordt geschat op 100 tot 150 mg. De hoeveelheid beschikbaar Sn zou dan in de orde van 10 mg zijn. Onderstaande benaderende berekening maakt duidelijk dat de hypothese van de 'onuitputtelijke bron' niet onwaarschijnlijk is.

Signaal bij pneumatische verstuiving van 10 µg/L Sn = 100 000 cps

⇓ (debiet van de verstuiver = 1 mL/min)

10 ng/min = 100 000 cps

⇓ (2% bereikt het plasma)

200 pg/min = 100 000 cps of 3,3 pg/s = 100 000 cps

⇓ (achtergrond = 300 cps)

achtergrondsignaal = 10 fg/s

⇓ (tape bevat 10 mg Sn)

tape uitgeput na 10^{12} seconden gebruik
(in geval van constante afgifte)

2. Wat veroorzaakt de spikes ?

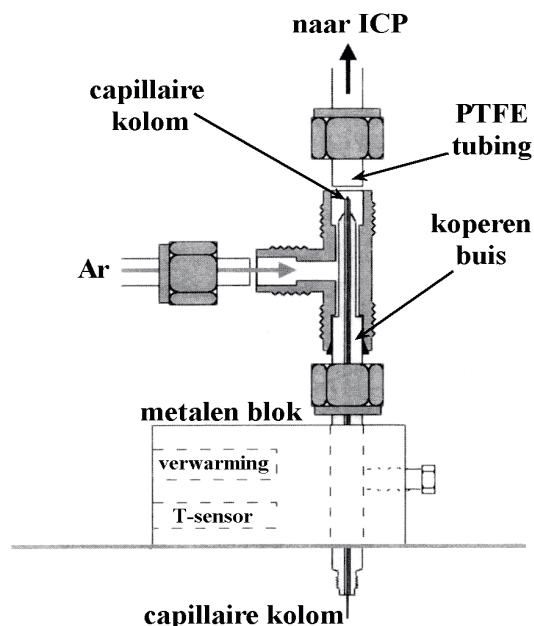
Omdat de spikes in een zeer korte tijdspanne optreden valt hun isotopische samenstelling niet te controleren. Het vermoeden bestaat dat ze veroorzaakt worden

door deeltjes die vrijkomen uit de transferlijn. De spikes lijken gepaard te gaan met snelle variaties in temperatuur en kunnen mogelijk veroorzaakt worden door snelle uitzetting/inkrimping van het materiaal. Hierbij zouden mogelijk minuscule stukken (oververhitte) tape kunnen loskomen die door het Ar meegevoerd worden naar het plasma.

Tot slot van dit deel dient er vermeld te worden dat de meeste vragen in verband met het achtergrondsignaal jammer genoeg pas gesteld werden op het einde van het onderzoek. Bepaalde experimenten en/of voorzorgen hadden waarschijnlijk nog meer duidelijkheid in deze zaak kunnen brengen. Ondanks deze onvolledigheid lijkt het toch nuttig om de bovenstaande bedenkingen en vermoedens in dit werk te vermelden.

1.2.4 Transferlijn Oviedo

In 1999 introduceerden Sanz-Medel et al. een transferlijn waarbij geen verwarming 'tussen' GC en ICP gebruikt wordt [Montes Bayon, 1999] (figuur 4.12). De onderzoekers van de universiteit van Oviedo maakten gebruik van een korte koperen buis die zich deels in een verwarmingsblok en deels in een T-stuk bevindt. De capillaire kolom eindigt iets voorbij het uiteinde van de koperen buis. Het T-stuk wordt gebruikt om onverwarmd (!) Ar toe te voegen. Aan het T-stuk werd een darm uit PTFE (i.d. 1,5 mm) gekoppeld die de analieten met het Ar draaggas naar het ICP voert.



Figuur 4.12: Interface die aan de Universiteit van Oviedo gebruikt wordt bij GC-ICP-MS.

Met deze opstelling werden enkele chromatogrammen opgenomen van organotinstandaarden. Hierbij was er - tot verbazing van velen - nauwelijks bandverbreding te bespeuren (de semi-vluchtige TPhT en TCT werden weliswaar niet getest). De auteurs verklaarden hun succes door de zeer hoge transportsnelheid

die er in de tubing heerst. Alhoewel er in eerste instantie geen nadelen van deze transferlijn gerapporteerd werden, bleken die er wel degelijk te zijn. Uit een publicatie van het jaar 2000 bleek dat er problemen waren met bandverbreding bij de speciatie van vluchtige organoseleenverbindingen [Vazquez Pelaez, 2000]. Bandverbreding bleek ook afhankelijk te zijn van het soort tubing, een gegeven dat duidelijk wijst op een zekere interactie tussen bepaalde componenten en de tubing. PFA bleek de beste (minst slechte ?) resultaten te geven. De bandverbreding bleek ook toe te nemen naarmate de transfer tubing meer gebruikt was. Om deze redenen diende de tubing om de paar weken te worden vervangen.

De effecten die bij deze transferlijn vastgesteld werden, zijn sterk vergelijkbaar met effecten die gerapporteerd werden voor andere transferlijnen waarbij geen verwarming van het volledige traject gebeurt. In eerste instantie worden er (met standaardoplossingen) goede resultaten behaald. Problemen met bandverbreding ontstaan pas na verloop van tijd en bij gebruik van reële monsters. Hoogstwaarschijnlijk ligt condensatie van matrixcomponenten - die daarbij een ongecontroleerde fase vormen - aan de basis van dit alles.

Ondanks de eenvoud van deze koppeling bleef het gebruik van dit soort transferlijn, voor zover ons bekend, tot op heden beperkt tot de Universiteit van Oviedo.

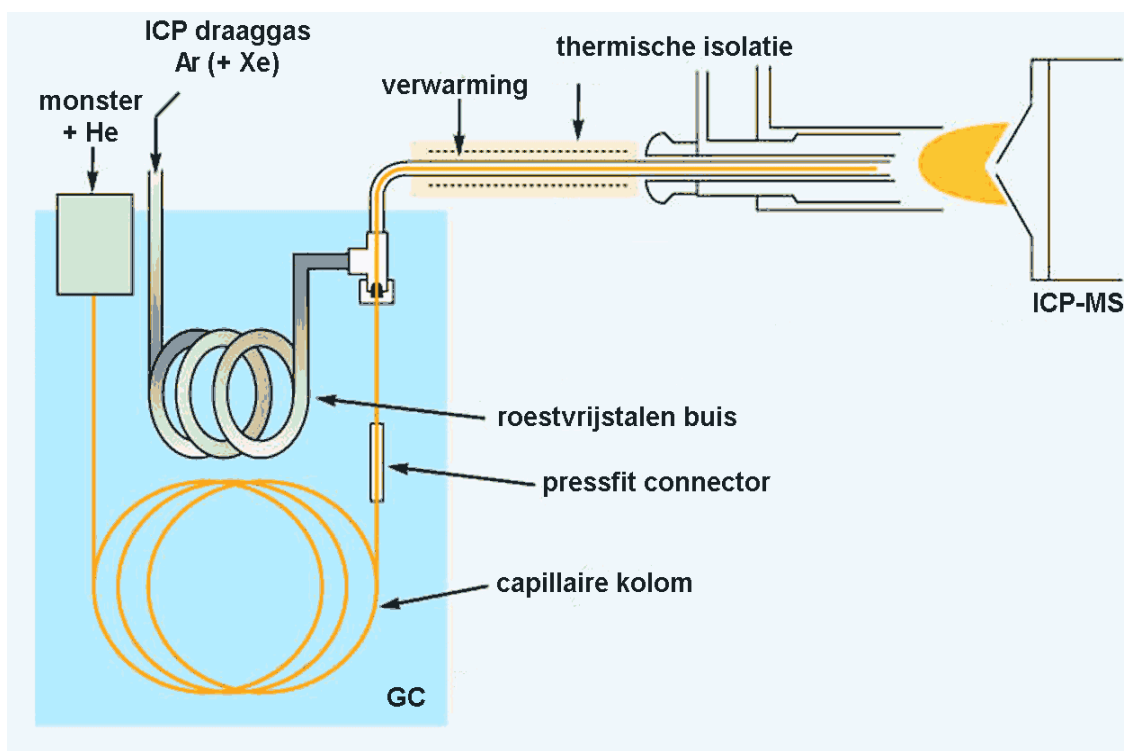
1.2.5 Agilent Transferlijn

De firma Agilent bracht zeer recent een transferlijn (figuur 4.13) op de markt voor de koppeling van de Agilent 6890 GC met een Agilent 7500 Series ICP-MS [Website Agilent, A]. Bepaalde aspecten van deze transferlijn zijn gebaseerd op de in ons labo (o.a. voor Agilent) ontwikkelde transferlijnen.

De belangrijkste verschillen/verbeteringen zijn:

- flexibele constructie (waardoor er geen problemen meer optreden door beweging van het toortsbox compartiment)
- volledige softwarematige integratie van GC, transferlijn en ICP-MS
- het gebruik van de voedingsbron van de GC

- temperatuurcontrole van de transferlijn door de GC
- Ar voorverwarming in de GC-oven
- Xe wordt toegevoegd aan het ICP-draaggas in plaats van aan het GC-draaggas



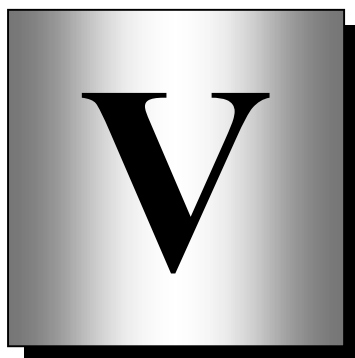
Figuur 4.13: Schematische voorstelling van de commercieel verkrijgbare transferlijn van de firma Agilent.

Deze koppeling maakt ook gebruik van verwarming 'in' de toorts. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een speciale ('dismountable') toorts en een verwarmde injector. Hoe de verwarming van de injector exact gebeurt is niet bekend. De beslissing om Xe aan het ICP draaggas toe te voegen werd waarschijnlijk genomen om het gaschromatografisch aspect van de setup zoveel mogelijk ongemoeid te laten. Hierbij gaan wel enkele van de diagnostische mogelijkheden van het Xe verloren. De transferlijn werd succesvol gebruikt voor de bepaling van organotinverbindingen in oesters [Website Agilent, B]. Hoe de prestaties op lange termijn zullen zijn, valt nog af te wachten.

1.3 Referenties hoofdstuk 4

•	De Smaele, 1998	De Smaele T, doctoraatsthesis, 1998 , Universiteit Gent
•	Vazquez Pelaez, 2000	Vazquez Pelaez M, Montes Bayon M, Garcia Alonso JI, Sanz-Medel A, J ANAL AT SPECTROM, 2000 , 15, 1217-1222
•	Kim, 1992	Kim AW, Foulkes ME, Ebdon L, Hill SJ, Patience RL, Barwise AG en Rowland SJ, J ANAL AT SPECTROM, 1992 , 7, 1147-1149
•	Ebdon, 1994	Ebdon L, Evans H, Pretorius WG en Rowland SJ, J ANAL AT SPECTROM, 1994 , 9, 939-943
•	Montes Bayon, 1999	Montes Bayon M, Gutiérrez Cambor M, Garcia Alonso JI en Sanz-Medel A, J ANAL AT SPECTROM, 1999 , 14, 1317-1322
•	Website Agilent, A	http://www.chem.agilent.com/temp/rad96D74/00026879.pdf
•	Website Agilent, B	http://www.chem.agilent.com/temp/rad19367/00027388.pdf
•	Website DuPont	http://www.dupont.com/msds/60_65_kap00016.html

Hoofdstuk



MULTI-ELEMENT SPECIATIE MET QUADRUPOOL ICP-MS

No man is a failure who is enjoying life...(W. Feather)

1.1 Inleiding

Een van de meest typische kenmerken van een quadrupool massaspectrometer is de sequentiële manier van massaselectie. Het scannen van meerdere nucliden kan nooit gebeuren zonder een verlies aan informatie. In het geval van een perfect constant signaal levert dit dataverlies geen probleem op. Voor transiënte signalen liggen de zaken minder eenvoudig. Het verlies aan informatie bij dit soort signalen kan vaak beperkt worden door weloverwogen keuze van verschillende instrumentele parameters. Bovendien hoeft het verlies van ruwe gegevens niet altijd een verlies aan relevante informatie te betekenen.

In dit hoofdstuk komen enkele theoretische aspecten in verband met transiënte signalen, telstatistiek en instrumentele beperkingen van een quadrupool massafilter aan bod. Oorspronkelijk was het ook de bedoeling om op experimentele basis te onderzoeken of een time-of-flight (TOF) analyzer beter geschikt was om transiënte signalen te registreren. Hiervoor zouden criteria zoals piekvorm, herhaalbaarheid en detectielimiet voor beide types toestellen geëvalueerd bij verschillende meetscenario's. De experimenten met TOF-massaspectrometer konden jammer genoeg niet uitgevoerd worden en de experimenten met een quadrupool toestel bleken achteraf onbruikbaar omwille van verschillende redenen (instrumentele problemen, foute proefopzet, ...). Daarom werd besloten om de twee toestellen op zuiver theoretische gronden en gegevens uit de literatuur te vergelijken.

De conclusies in verband met dit onderzoek en de relevantie voor praktische toepassingen worden in het laatste deel behandeld. Voor een toepassing van multi-element speciatie met een quadrupool massafilter wordt verwezen naar hoofdstuk 8. Daar komt de bepaling van verschillend soorten organometalen in gassen afkomstig van een gistingstank van een waterzuiveringsstation aan bod.

1.2 Theoretische beschouwingen

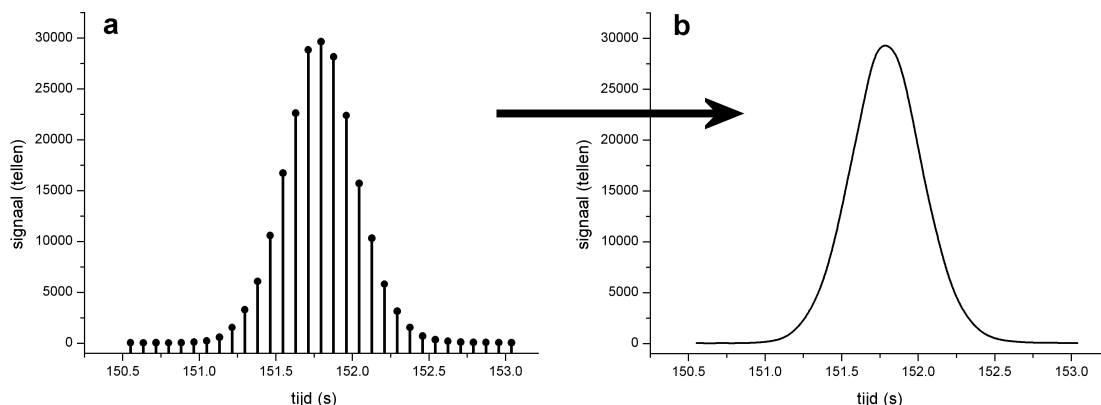
1.2.1 Transiënte signalen

Een transiënt signaal wordt gedefinieerd als een signaal dat varieert in functie van de tijd. In de praktijk worden de signalen bij ICP-MS meestal onderverdeeld in twee categorieën. Ofwel noemt men een signaal transiënt ofwel continu. Hierin schuilt echter een verkeerd taalgebruik aangezien een continu signaal strikt genomen het tegengestelde is van een discontinu of onderbroken signaal. Aangezien er bij ICP-MS een aantal ionen wordt geteld kan men de meting beschouwen als de registratie van telcadans. Hierdoor kan er per definitie nooit een continu signaal bekomen worden. Echt continue signalen treden bijvoorbeeld op bij de registratie van eigenschappen zoals temperatuur, potentiaalverschil, druk,... (alhoewel dit soort registraties door digitalisering vaak worden omgezet naar discontinue signalen).

De twee verschillende soorten signalen bij ICP-MS kunnen beter omschreven worden door gebruik te maken van de termen 'transiënt' en 'steady-state' of 'constant'. In het eerste geval stelt men een variatie van de telcadans in functie van de tijd vast, in het tweede geval niet. In de praktijk speelt de tijdsperiode waarover een meting wordt uitgevoerd een belangrijke rol. Aangezien verschillende factoren bij ICP-MS zorgen voor fluctuaties in het signaal (telstatistiek, onstabielheid van het plasma, enz.) zijn de signalen in de limiet nooit constant. Wanneer de debietmeting over een voldoende ruime periode wordt uitgevoerd kunnen vele fluctuaties uitgemiddeld worden en kan men het signaal toch als constant beschouwen. In het geval een oplossing door middel van pneumatische verstuiving in het plasma wordt gebracht, spreekt men bijgevolg vrijwel steeds van een constant signaal. Het gebruik van ICP-MS in combinatie met elektrothermische vervluchtiging, 'single shot' laser ablatie en chromatografie levert een transiënt signaal op.

Ondanks het feit dat een ICP-MS meting intrinsiek discontinu is (figuur 5.1a), wordt het meestal voorgesteld als een continu signaal (figuur 5.1b). Daarbij kunnen de meetpunten verbonden worden door rechte lijnen, maar meestal wordt er een

bepaalde 'smoothing' uitgevoerd. Men doet er echter goed aan om de oorsprong van dit continue signaal niet uit het oog te verliezen.



Figuur 5.1: Omzetting van het 'echte', discontinue signaal naar een continu signaal.

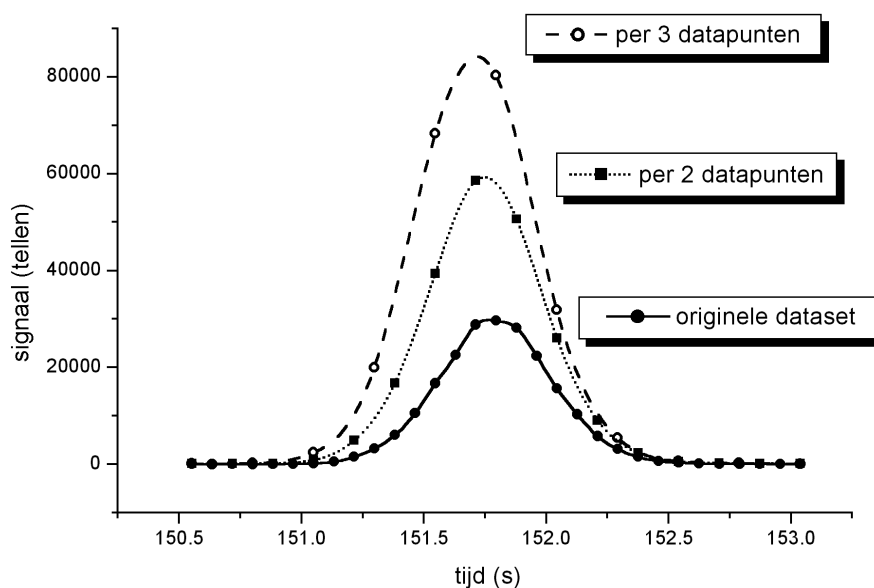
1.2.2 Enkele veelgebruikte begrippen

- dwell time = de effectief gebruikte meettijd per datapunt.
- settling time = de tijd die verloren wordt door aanpassing van de spanning op de quadrupoolstaven en de daaropvolgende stabilisatie.
- sampling interval = de tijd tussen twee opeenvolgende datapunten.
- duty cycle = de fractie van de tijd die effectief wordt gebruikt voor het telproces = dwell time / (dwell time + settling time).

1.2.3 Digitalisatiefouten

Hoewel een ICP-MS instrument geen analoge signalen produceert zou men het verkregen digitaal signaal kunnen beschouwen als de weergave van een onderliggend, virtueel, analoog signaal. Gezien het karakter van de meting bestaat er niet één enkel mogelijk analoog bronsignaal. De dwell time bepaalt namelijk de vorm van het signaal. Dit kan eenvoudig aangetoond worden door de gegevens in figuur 5.1 te beschouwen. Stel dat men hetzelfde signaal zou registreren met een dwell time die twee of drie keer groter is. Dan zou het bekomen signaal (uitgedrukt in tellen) twee, respectievelijk drie keer minder datapunten per tijdseenheid bevatten, maar de gemiddelde signaalhoogte zou ook twee/drie keer groter zijn (wanneer men

het signaal zou uitdrukken in tellen per seconde, zou de signaalhoogte wel min of meer constant blijven). Dit proces komt neer op het per twee/drie groeperen van de originele datapunten en is voorgesteld in figuur 5.2. De vraag welk signaal het 'beste' is, is minder eenvoudig dan ze lijkt. Het antwoord hangt af van twee zaken: de manier waarop de gegevens verwerkt worden en de vereiste informatie. In de figuur is ook zichtbaar dat er een verschuiving van het signaalmaximum optreedt. Dit is het gevolg van de manier waarop de gegevens gegroepeerd worden. Elk datapunt is namelijk een koppel dat bestaat uit een aantal tellen en het tijdstip waarop de telling 'gestart' werd. Dit effect, 'skewing' genaamd, kan een (kleine) rol spelen bij het vergelijken van retentietijden van chromatografische pieken die op verschillende manieren geregistreerd werden. Er valt vrij eenvoudig voor te corrigeren door het volledige signaal te verschuiven over de helft van de meettijd per datapunt. In de praktijk wordt dit zelden effectief uitgevoerd omdat de fout vrijwel steeds te verwaarlozen is.



Figuur 5.2: Het meetinterval heeft een grote invloed op het signaal.

In al het voorgaande werd er steeds van uitgegaan dat er slechts één nuclide werd geobserveerd en dat er dus geen gegevens verloren gingen. In het geval er signalen van meerdere nucliden worden geregistreerd, moet de meettijd verdeeld worden over de verschillende signalen. Indien we een eenvoudige situatie beschouwen waarbij er vier verschillende signalen, elk met eenzelfde dwell time, geregistreerd worden, dan zal er voor elk signaal 75% van de ruwe gegevens verloren gaan.

Om het begrip digitalisatiefout te verduidelijken moet men er van uitgaan dat er wel degelijk een ‘oorspronkelijk analoog signaal’ bestaat. Stel dat we dit nu definiëren als:

het signaal dat volledig geregistreerd werd (door registratie van slechts één nuclide) en dat alle relevante informatie bevat in verband met de wijziging van het signaal.

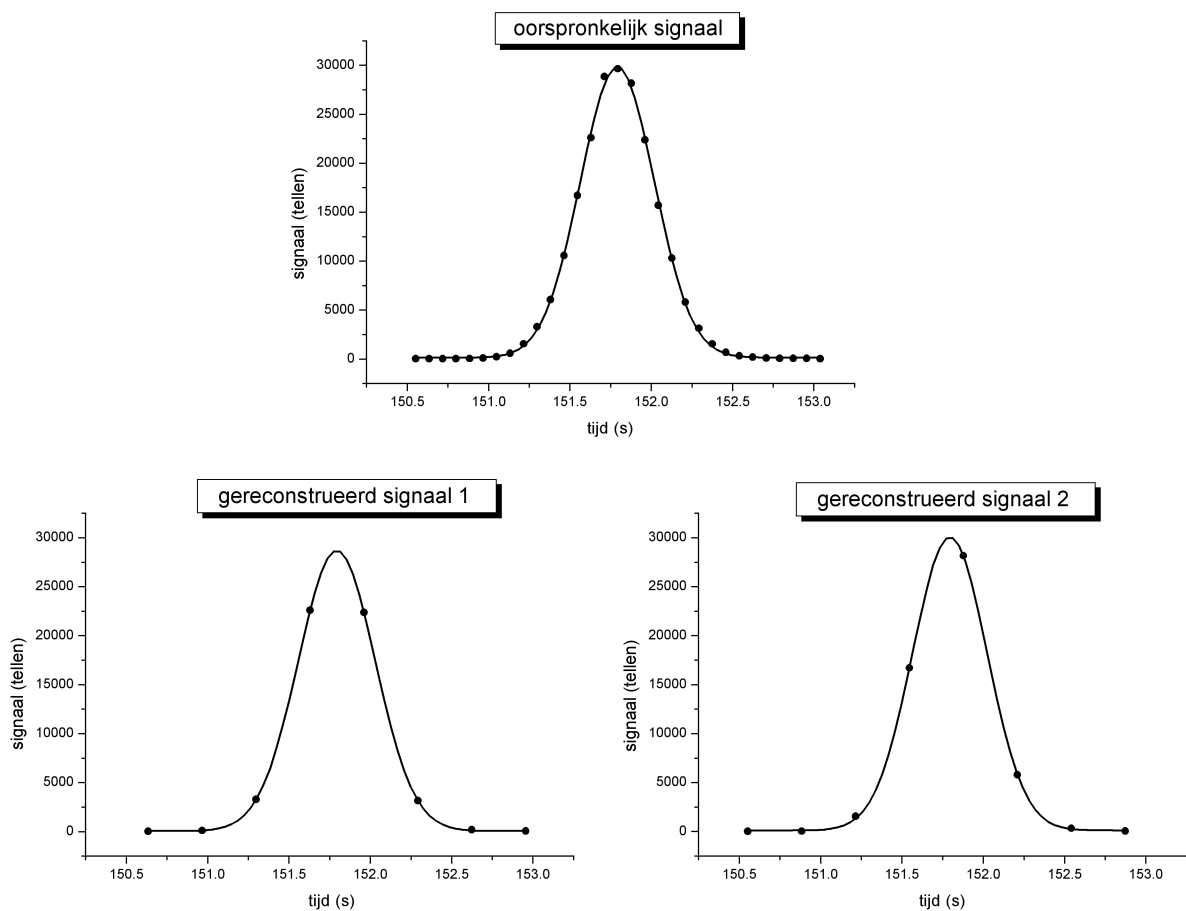
Dit zou bijvoorbeeld een van de signalen uit figuur 5.2 kunnen zijn.

Beschouwen we nu terug de situatie waarbij er vier nucliden om beurt gemeten worden, en er voor elk een dwell time gebruikt wordt die gelijk is aan die van de dataset die toebehoort aan het ‘oorspronkelijk analoog signaal’. Voor een nuclide zal deze manier van registreren er dan op neerkomen dat er telkens één punt geregistreerd wordt waarna er drie punten verloren gaan. Dit proces kan men beschouwen als een vorm van digitalisatie van het ‘oorspronkelijk analoog signaal’. Het digitaal signaal noemt men accuraat op voorwaarde dat het door reconstructie terug kan omgezet worden naar een analoog signaal (I_r) dat perfect gelijk is aan het oorspronkelijke (I_o). Het verschil tussen het gereconstrueerde signaal en het oorspronkelijke signaal noemt men de ‘digitalisatiefout’. De relatieve digitalisatiefout (RDF) definieert men als volgt:

$$\text{Relatieve digitalisatiefout (RDF)} = \frac{I_o - I_r}{I_o}$$

In de praktijk zal men niet het signaal zelf, maar een bepaalde karakteristiek ervan evalueren, zo kan men bijvoorbeeld de relatieve digitalisatiefout op de oppervlakte onder het signaal (RDF_A) als criterium gebruiken. De grafische voorstelling van deze materie is weergegeven in figuur 5.3. In deze figuur werden twee reconstructies gemaakt van een Gaussiaans signaal (onderste curve in figuur 5.2) door gebruik te maken van slecht 25% van de oorspronkelijke gegevens. De verschillen tussen de karakteristieken van het oorspronkelijk signaal en die na reconstructie op basis van een Gaussiaanse fit zijn voorgesteld in tabel 5.1. Daarbij valt op dat, ondanks het

beperkt aantal punten, de reconstructie zeer goed is en bijgevolg de digitalisatiefout voor de meeste parameters klein is. Reconstructie 1 (op basis van de meest symmetrische dataset) levert een beter resultaat op voor de oppervlakte onder de curve dan reconstructie 2 (op basis van een asymmetrische dataset). Voor de piekhoogte en de piekbreedte (vaak uitgedrukt als 4σ) vindt men een omgekeerde trend. Wanneer de reconstructie niet voldoet aan vooropgestelde eisen, met ander woorden wanneer de digitalisatiefout te groot is voor het doeleinde dat men in gedachten heeft, spreekt men van ‘undersampling’.



Figuur 5.3: Vergelijking van een oorspronkelijke analoog signaal met twee reconstructies van een digitaal signaal (op basis van 25% van de oorspronkelijke gegevens).

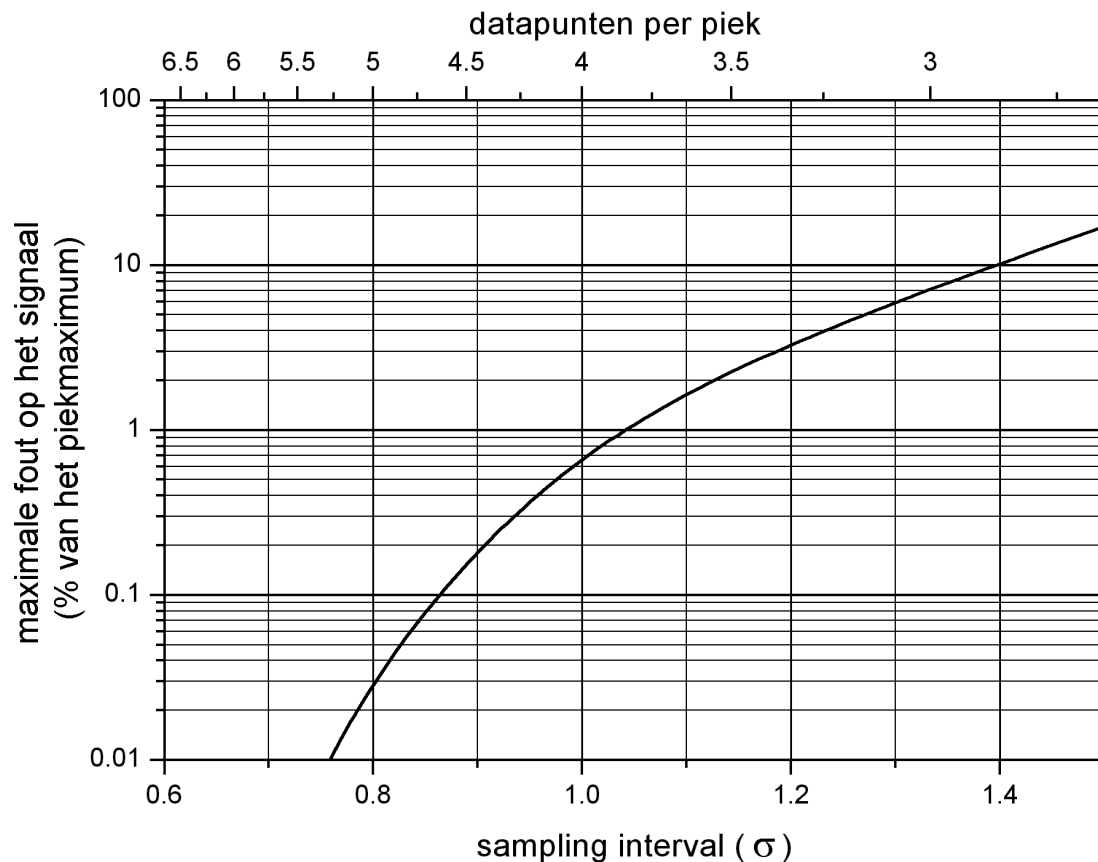
Tabel 5.1: Vergelijking van enkele eigenschappen van een oorspronkelijke analoog signaal met twee reconstructies (Gaussiaanse fit) van hetzelfde signaal.

	Oorspronkelijk	reconstructie 1	reconstructie 2
centrum (s)	151,79161	151,79365	151,79456
DF _{centrum} (s)		0,00204	0,00295
piekhoogte (h) (tellen)	29702	28653	29948
RDF _h (%)		3,5	0,82
4 σ (s)	0,9108	0,9477	0,91428
RDF _{2σ} (%)		4,1	0,38
piekoppervlakte (A) onder de curve (tellen x s)	16953	17017	17159
RDF _A (%)		0,38	1,2

De vraag die zich nu stelt is: “Welk sampling interval levert welke maximale digitalisatiefout op voor een bepaalde karakteristiek?”. Er wordt verkozen om deze materie uit te drukken in functie van het sampling interval. Spreekt men liever over een aantal punten per piek, dan moeten er eerst afspraken gemaakt worden over de breedte van de piek. Voor een Gaussiaans signaal gebruikt men vaak 4 σ (= breedte op 13,4% van de piekhoogte). Een sampling interval van σ zou dan overeenkomen met 4 datapunten per piek.

Kelly en Horlick berekenden op theoretische basis welk sampling interval er nodig was om een Gaussiaans signaal te reconstrueren met een welbepaalde maximale digitalisatiefout op de signaalhoogte ‘over het volledig signaal’ [Kelly, 1973]. Hun gegevens zijn grafisch weergegeven in figuur 5.4. Daaruit blijkt dat voor een sampling interval van σ (= 4 punten per piek), de afwijking op eender welk punt van het signaal kleiner dan 1% van de piekhoogte zal zijn. De auteurs wezen erop dat, als enkel de fout in het centrum van de piek belangrijk is (b.v. bij het werken op basis van het signaalmaximum), er een veel groter interval (= minder punten) kon gebruikt worden. Ze maakten niet de berekening voor de - vanuit chromatografisch standpunt

interessantere - piekoppervlakte. Ze stelden wel dat deze karakteristiek een grotere tolerantie inzake het vereiste aantal datapunten vertoonde.



Figuur 5.4: De maximale digitalisatiefout op de signaalhoogte over het volledige verloop van een Gaussiaans signaal in functie van sampling interval of aantal punten per piek (over een breedte van 4σ), uitgedrukt als % van het piekmaximum.

Baumann et al. vonden een fout van 0,01% op de piekoppervlakte van een Gaussiaans signaal wanneer er een sampling interval van σ gebruikt werd. Nog interessanter was dat een sampling interval van 2σ (2 punten per piek) slechts in een fout van 1,44% resulteerde [Baumann, 1969]. Men kan dus stellen dat er minder datapunten nodig zijn om een goede benadering te vinden voor het piekoppervlakte dan voor de piekhoogte. Een curve die de fout op de piekoppervlakte weergeeft in functie van het aantal datapunten zou dus beduidend lager gelegen zijn dan die in figuur 5.4.

Het feit dat een relatief groot sampling interval (laag aantal datapunten per piek) toch voor een goede reproductie van het oorspronkelijke signaal kan zorgen, steunt

op de voorkennis van het signaal. In de bovenstaande uiteenzetting wordt er steeds uitgegaan van een Gaussiaans signaal. Het is evident dat naarmate een signaal complexer is van opbouw er veel meer datapunten zullen nodig zijn om een goede reconstructie van het oorspronkelijk signaal te bekomen. Jammer genoeg zijn vele complexe signalen niet eenvoudig uit te drukken als een wiskundige functie. Een theoretische benadering zoals bij een Gaussiaans signaal is daarom vaak niet mogelijk.

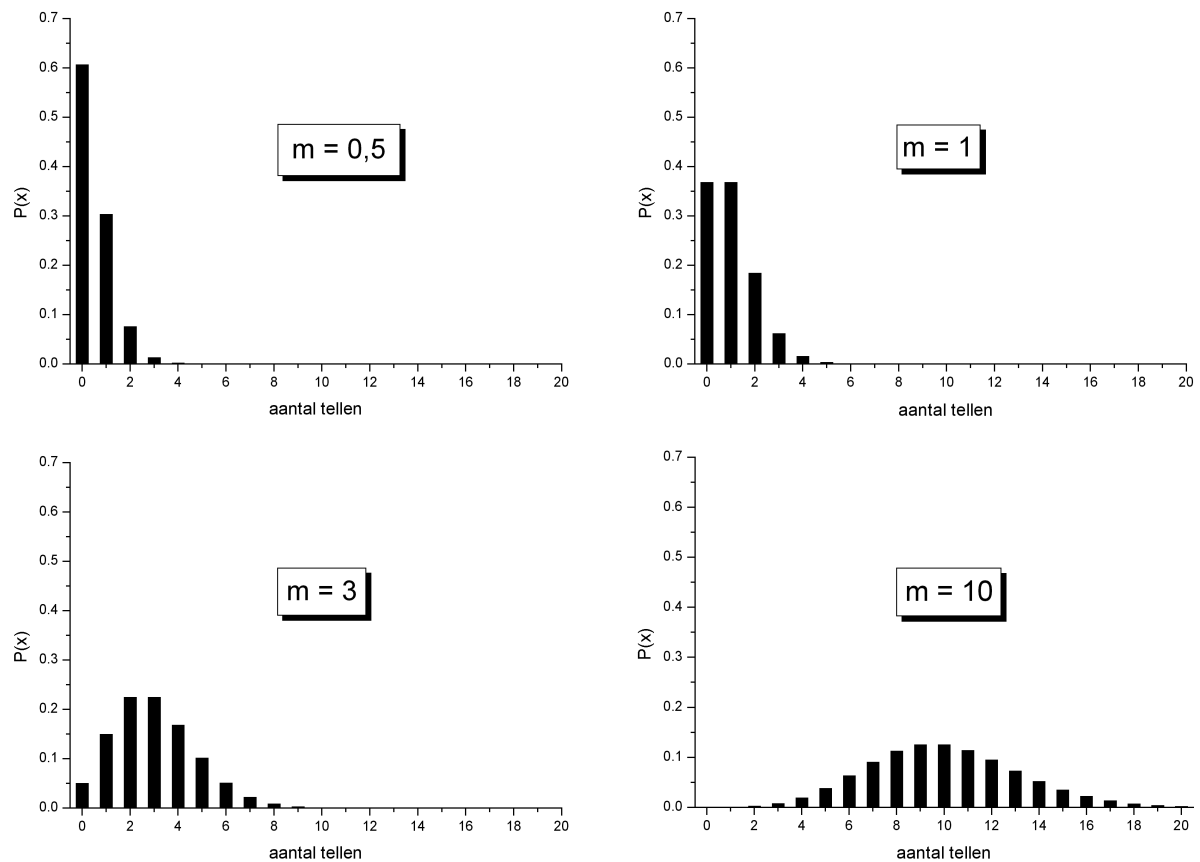
Het spreekt voor zich dat elke fluctuatie die optreedt tussen twee datapunten niet zal geregistreerd worden. Een fluctuatie die volledig optreedt binnen de meettijd van één datapunt zal ook uitgemiddeld worden, waardoor er ook informatie verloren kan gaan. In dit laatste geval kan het vergelijken van de gegevens van naburige datapunten soms wel tot een indicatie leiden van het optreden van een anomalie, maar meer dan een indicatie levert het niet op.

1.2.4 Telstatistiek

De registratie van signalen bij ICP-MS is gebaseerd op het tellen van ionen. Het gevolg hiervan is dat de onzekerheid op een aantal tellen beperkt wordt door de telstatistiek. Deze beperking geldt zowel voor het aantal tellen voor één datapunt als voor een som van tellen van meerdere datapunten. De telstatistiek vormt steeds de ondergrens voor de haalbare onzekerheid. In de praktijk dragen andere factoren, vaak van instrumentele aard, ook bij tot de onzekerheid op een aantal tellen.

De telprocessen waarover het gaat, kunnen uitgedrukt worden als distributies van het aantal geregistreerde tellen. Afhankelijk van de karakteristieken van de reële distributie kunnen verschillende theoretische distributies als benadering gebruikt worden om voorspellingen te maken.

1.2.4.1 Poisson distributie



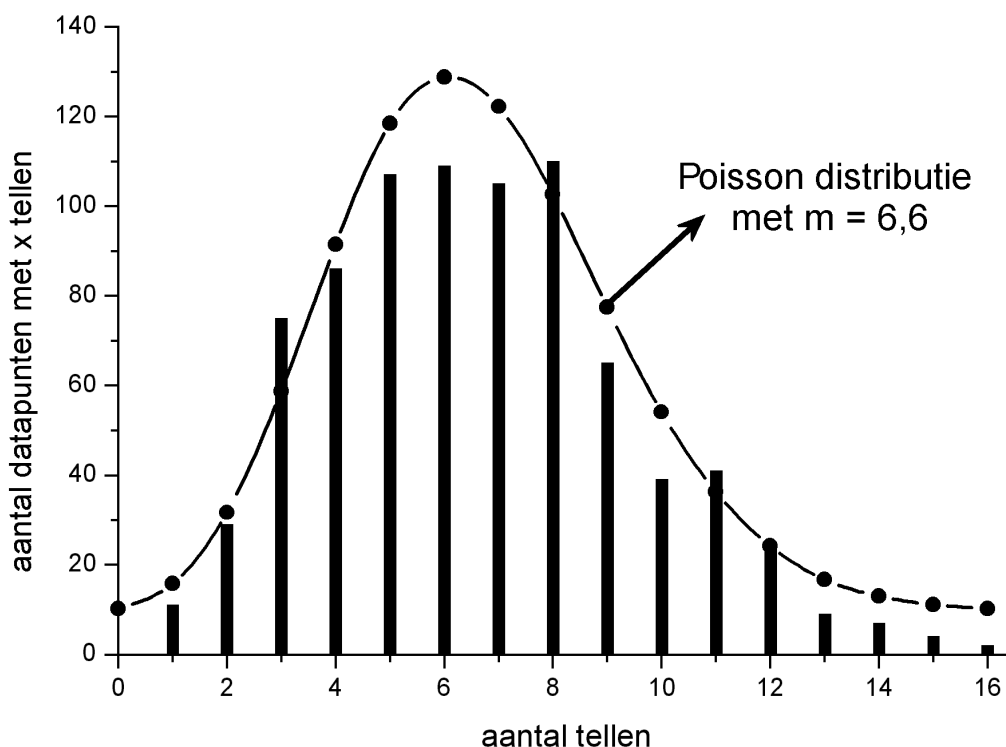
Figuur 5.5: Weergave van Poisson distributies met gemiddelden van 0,5 – 1 – 3 – 10.

De belangrijkste distributie voor het soort telproces dat hier wordt behandeld, is de Poisson distributie. Het is een vereenvoudigde vorm van een binomiaal distributie waarvoor de probabilliteit van een gebeurtenis (b.v. de registratie van een ion) laag is en het aantal ‘trials’ groot is zodat er over het totaal van alle trials toch een redelijk aantal gebeurtenissen is. Een Poisson distributie beschrijft de verdeling van discrete getallen, en wordt uitgedrukt onder de vorm van een formule voor de probabilliteit:

$$P(x) = \frac{m^x}{x!} \cdot e^{-m}$$

Waarbij x = een aantal tellen (0, 1, 2, 3,...)
 m = het gemiddeld aantal tellen
 $P(x)$ = de probabilliteit dat er x tellen geregistreerd worden

In figuur 5.5 zijn enkele Poisson distributies weergegeven met een verschillend gemiddelde. De verdeling van het achtergrondsignaal van ^{120}Sn bij een koude transferlijn (zie vorige hoofdstuk) is weergegeven in figuur 5.6. Diezelfde figuur bevat ook een curve die de Poisson verdeling weergeeft met een gemiddelde van 6,6 tellen. Hierbij valt de relatief goede overeenkomst op tussen de twee distributies. Er kan dus gesteld worden dat de achtergrond van een koude transferlijn vrij goed benaderd wordt door gebruik te maken van een Poisson distributie.



Figuur 5.6: *Histogram*: distributie van de 825 datapunten van de achtergrondmeting op ^{120}Sn bij een koude transferlijn. *Curve*: Poisson verdeling met gemiddelde 6,6.

Een belangrijke eigenschap van de Poisson distributie is dat ze slechts van één parameter afhangt: het gemiddelde m (een eigenschap die ongetwijfeld ook bijdraagt tot de populariteit van deze distributie). Er kan ook afgeleid worden dat de variantie σ^2 gelijk is aan het gemiddelde m :

$$\sigma^2 = m$$

waaruit volgt dat de standaardafwijking σ gelijk is aan de vierkantswortel van m .

$$\sigma = \sqrt{m}$$

Van deze laatste eigenschap wordt zeer veel gebruik gemaakt in de telstatistiek. De relatieve standaardafwijking σ_r op een gemiddelde m wordt bijgevolg gegeven door:

$$\sigma_r = \frac{\sqrt{m}}{m} = \frac{1}{\sqrt{m}} \quad \text{Waarbij } n = \text{aantal datapunten}$$

Een andere eigenschap van deze distributie is de asymmetrische vorm. Het is wel zo dat de distributie meer en meer symmetrisch wordt naarmate het gemiddelde groter is (zie ook figuur 5.5). Voor $m \geq 20$ vormt een Gaussiaanse verdeling (zie 1.2.3.2) met een gemiddelde gelijk aan m en σ gelijk aan \sqrt{m} een relatief goede benadering van de Poisson distributie met gemiddelde m .

In de praktijk neemt men in vele gevallen aan dat de onzekerheid die eigen is aan een telproces, kan benaderd worden door middel van een Poisson distributie. Indien dit zo is, dan kan men verwachten dat die onzekerheid (evenredig met de vierkantswortel van het gemiddelde) een ‘relatief’ grote bijdrage zal leveren voor een laag aantal tellen en snel zal afnemen voor grotere aantallen. Hierin schuilt ook het belang van de gevoeligheid (aantal tellen per concentratie) van een systeem. Wanneer de gevoeligheid a keer toeneemt, en de signaal/ruis-verhouding daarbij constant blijft, zal de detectielimiet (die evenredig is met de standaardafwijking op de ruis) met een factor \sqrt{a} verkleinen.

Binnen de ICP-MS wereld (en ook vaak daarbuiten) definieert men de detectielimiet (LOD) meestal als:

$$LOD = \frac{3s}{g}$$

Waarbij s = standaardafwijking op de achtergrond of blanco

g = gevoeligheid (signaalintensiteit per concentratie)

Indien de achtergrond op een zelfde manier wijzigt als een analietsignaal vormt de relatieve standaardafwijking op de achtergrond een directe maat voor de detectielimiet.

1.2.4.2 Gaussiaanse distributie of Normaal distributie

De Gaussiaanse distributie is zonder twijfel de meest voorkomende distributie in de wetenschap. Zoals in vorig punt al werd aangestipt, kan een Poisson verdeling met een hoog gemiddelde benaderd worden door een Gaussiaanse verdeling. Voor deze symmetrische verdeling geldt:

$$P(x) = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}}$$

In tegenstelling tot een Poisson distributie hangt een Gaussiaanse verdeling af van twee parameters: het gemiddelde m en de standaardafwijking σ . De vorm van deze verdeling wordt bepaald door de standaardafwijking σ , die correspondeert met de halve breedte van de piek op ongeveer 60% van de maximale hoogte. In vele toepassingen wordt gebruik gemaakt van de volledige breedte op halve hoogte ($w_{1/2}$) die in verband staat met de standaardafwijking volgens:

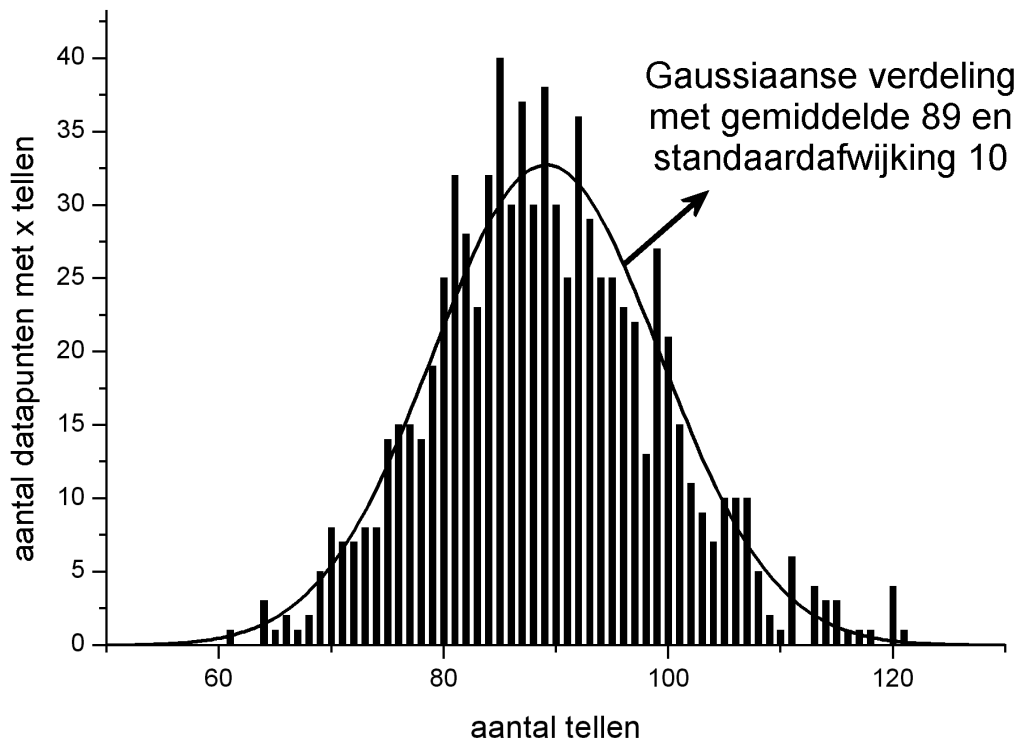
$$w_{1/2} = 2,35\sigma$$

De symmetrische verdeling laat toe om een beeld te krijgen van welke fractie er zich tussen bepaalde grenzen boven en onder het gemiddelde bevindt.

In figuur 5.7 is de verdeling weergegeven van de achtergrond bij een warme transferlijn, op dezelfde figuur is ook een Gaussiaanse curve met hetzelfde gemiddelde en dezelfde standaardafwijking als de experimenteel gevonden

distributie weergegeven. Uit de figuur blijkt dat de Gaussiaanse verdeling inderdaad een goede benadering is voor de gevonden distributie. Dezelfde verdeling zou ook kunnen benaderd worden door een Poisson verdeling ($\sigma = \sqrt{89} = 9,4$) waaruit blijkt dat de spreiding ook hier grotendeels door de verwachte telstatistiek bepaald wordt.

Ondanks het feit dat voor grote m-waarden vaak een Gaussiaanse distributie kan gebruikt worden als benadering, kiest men in vele gevallen voor de eenvoudigere Poisson distributie om de telstatistiek te behandelen. Deze laatste laat namelijk toe om zeer eenvoudig de theoretisch verwachte standaardafwijking te berekenen. Door deze theoretische waarde te vergelijken met de in de praktijk gevonden standaardafwijking kan men een beeld krijgen van de relatieve bijdrage van de telstatistiek op de totale spreiding van de meetresultaten.



Figuur 5.7: Histogram: Distributie van de 825 datapunten van de achtergrondmeting op ^{120}Sn bij een warme transferlijn. Curve: Gaussiaanse verdeling met gemiddelde 89 en standaardafwijking 10.

1.2.5 Instrumentele beperkingen van een quadrupool massafilter

Enkele van de instrumentele beperkingen van een quadrupool massafilter zijn reeds in dit en in vorige hoofdstukken aan bod gekomen. De belangrijkste handicap voor de materie die in dit hoofdstuk aan bod komt is zonder twijfel het sequentieel karakter

van de meting. Daarnaast wordt er tijdens het scannen ook een deel van de tijd niet gebruikt. De verhouding van de tijd die effectief gebruikt wordt voor het registreren van ionen op de totale meettijd noemt men de 'duty cycle'.

1.2.5.1 Sequentieel karakter

Situatie A: dwell time constant, sampling interval variabel

Analietsignaal

Omdat een quadrupool massafilter onder normale omstandigheden slechts één nuclide tegelijkertijd meet, gaan alle tellen van andere nucliden gedurende die tijd verloren. In het meest eenvoudige geval dat alle nucliden even lang worden gemeten zal bij het meten van n nucliden in plaats van één het signaal gemiddeld n keer lager worden. Hierbij wordt het signaal gedefinieerd als de som van alle tellen binnen de piek en kan men dus van een meting van de oppervlakte spreken (I_a). Wanneer we de onzekerheid op het telproces benaderen door een Poisson distributie dan zal relatieve onzekerheid op het aantal tellen met \sqrt{n} toenemen.

$$\begin{array}{c}
 n \text{ nucliden i.p.v. } 1 \\
 \Downarrow \\
 I_a \div n \\
 \Downarrow \\
 \text{relatieve onzekerheid op } I_a \times \sqrt{n}
 \end{array}$$

Indien er verschillende dwell times voor de nucliden gebruikt worden, dan kan men n vervangen door de verhouding van de totale meettijd voor alle nucliden op de effectief gemeten tijd voor het betreffende nuclide.

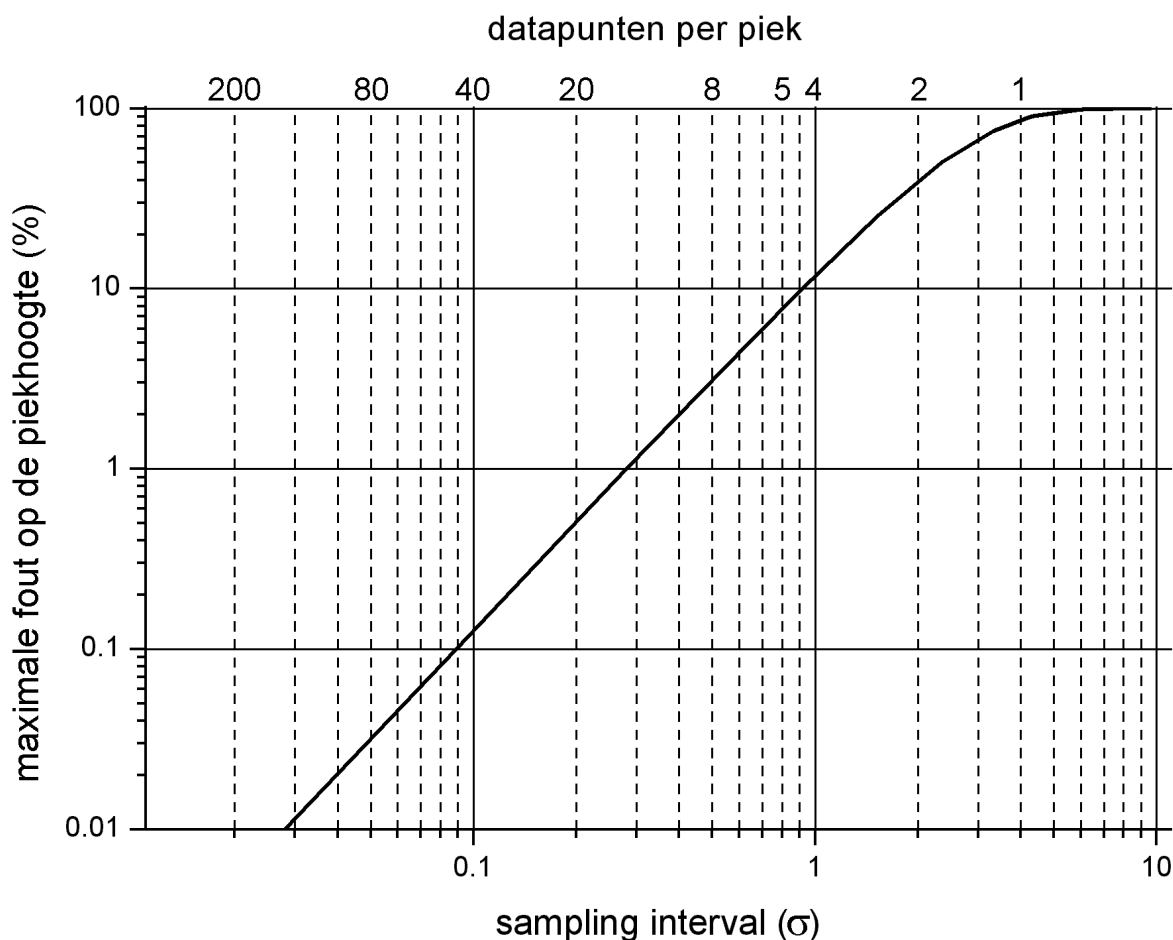
Men zou kunnen opmerken dat deze toename van relatieve onzekerheid enkel zal optreden wanneer men het signaal beschouwt als de som van het aantal geregistreerde tellen. Wanneer men echter een softwarematige integratie uitvoert van het signaal onder de curve zoals in figuur 5.3 en tabel 5.1 stelt men geen daling

van de piekoppervlakte vast, zodat men ook in eerste instantie geen toename van de relatieve onzekerheid verwacht. Deze redenering gaat echter voorbij aan het verschil tussen de oorspronkelijke en de gereconstrueerde gegevens. De onzekerheid door de telstatistiek slaat namelijk enkel op de oorspronkelijke gegevens. Het kunstmatig wijzigen van het aantal tellen door een mathematische bewerking zal dus geen effect hebben op de relatieve onzekerheid door de telstatistiek.

Een bijkomend effect op de onzekerheid op de onbewerkte piekoppervlakte wordt veroorzaakt door een effect dat men kan vergelijken met de digitalisatiefout. Wanneer de sampling punten zeer ver uit elkaar zouden liggen, bestaat zelf de kans dat de piek volledig gemist wordt. Hoe dit de onzekerheid op de piekoppervlakte beïnvloedt is niet eenvoudig te omschrijven. Hoe meer sampling punten op een piek, hoe meer punten er gemiddeld in het centrale deel van de piek zullen gelegen zijn en hoe kleiner de onzekerheid op de oppervlakte. Voor een meer kwantitatieve benadering wordt er verwezen naar de hiernavolgende vergelijkbare situatie bij de piekhoogte. Voor deze parameter is de benadering namelijk iets eenvoudiger.

Wanneer men enkel de piekhoogte (het datapunt met het hoogste aantal tellen, I_n) van het signaal beschouwt, zou men in eerste instantie geen daling van het signaal verwachten bij het meten van meerdere nucliden omdat de dwell time constant blijft. Toch zal er een daling van het gemiddelde signaal zijn omdat er n keer minder kans is dat er op het maximum gemeten wordt. De manier waarop de gemiddelde piekhoogte wijzigt zal afhangen van het sampling interval. Neemt men voor een Gaussiaans signaal een interval met breedte $< 2,34\sigma$ (= fractie kleiner dan $w_{1/2}$), dan zal er telkens één datapunt boven de helft van de oorspronkelijke piek geregistreerd worden. In het beste geval registreert men het maximum, in het slechtste geval een punt net boven halve (50%) hoogte. Hoe kleiner het interval, hoe hoger de ondergrens van het interval zal komen te liggen. In figuur 5.8 is de maximale fout weergegeven in functie van het sampling interval. De minimale fout is steeds 0% (wanneer men toevallig op het maximum meet). De gemiddelde fout op de piekhoogte zal bij benadering ongeveer de helft bedragen van de maximale fout. Het spreekt voor zich dat samen met de fout op de piekhoogte, de spreiding ook zal toenemen. Gebruikt men een sampling interval van $0,9\sigma$ dan zullen de piekhoogtes

gelegen zijn tussen 100% en 90%. Voor een interval van $2,35\sigma$ tussen 100% en 50%.



Figuur 5.8: De maximale fout op de piekhoogte van een Gaussiaans signaal in functie van het sampling interval of aantal punten per piek (over een breedte van 4σ).

Hoewel het in figuur 5.4 ook over een 'hoogte' van een Gaussiaans signaal gaat, mag men die situatie niet verwarren met figuur 5.8. In figuur 5.4 gaat het namelijk over de maximale fout op de signaalhoogte (voor elk datapunt) van een 'gereconstrueerd' signaal terwijl figuur 5.8 handelt over de piekhoogte (= signaalhoogte bij het maximum) en er bovendien geen gebruik wordt gemaakt een fitting procedure.

Zowel voor de piekoppervlakte als voor de piekhoogte kan men dus stellen dat de onzekerheid op een Gaussiaans signaal laag is (in de orde van procenten) wanneer men een sampling interval van kleiner of gelijk aan σ gebruikt (= 4 datapunten per piek). Voor een zelfde sampling interval, zal de onzekerheid op de piekoppervlakte

steeds kleiner zijn omdat het gemiddeld aantal tellen steeds groter zal zijn dan de piekhoogte, met andere woorden omdat men bij het gebruik van de piekhoogte geen rekening houdt met de naburige informatie (punten die ook boven de achtergrond liggen) en dat dit bij het berekenen van de piekoppervlakte wel gebeurt.

Achtergrond en detectielimiet

Vanzelfsprekend zal de toename van de onzekerheid ook merkbaar zijn op het achtergrondsignaal. De manier waarop deze onzekerheid beïnvloed wordt, hangt echter sterk af van de manier waarop men de achtergrond beschouwt. Stel dat men de situatie van figuur 5.3 neemt waarbij men eerst één nuclide registreert met een dwell time van 80 ms. Vervolgens wordt identiek hetzelfde signaal geregistreerd met eenzelfde dwell time, maar met nog drie andere nucliden.

⇒ Wanneer men het signaal (van zowel de piek als de achtergrond) beschouwt als de som van alle tellen binnen een welbepaald gebied (b.v. de breedte van de piek), dan zal men een vier keer lager signaal verwachten voor de achtergrond, een verdubbeling ($\sqrt{4}$) van de relatieve onzekerheid (b.v. over 10 achtergrondgebieden) en dus ook een verdubbeling van de bijhorende detectielimiet op basis van de piekoppervlakte (LOD_a).

$$\begin{array}{c} n \text{ nucliden i.p.v. } 1 \\ \Downarrow \\ LOD_a \times \sqrt{n} \end{array}$$

⇒ Wanneer men de piekhoogte beschouwt, zal de gemiddelde hoogte per datapunt niet wijzigen voor de achtergrond (want de dwell time blijft 80 ms). Indien er geen drift aanwezig is op de achtergrond zal de onzekerheid over een vast aantal punten (b.v. 5 voor en 5 na de piek) ook niet wijzigen. In dit geval zal de spreiding op de achtergrond niet bijdragen tot een variatie van de bijhorende detectielimiet (LOD_h). Beschouwt men de achtergrond binnen een bepaald gebied (b.v. 10 keer de breedte van de piek). Dan zal de standaardafwijking op vier keer minder punten berekend worden. Hoe dit de standaardafwijking zal beïnvloeden valt onmogelijk te zeggen. Meer punten zullen een juister beeld geven van de onzekerheid, maar leiden niet

noodzakelijk tot een kleinere onzekerheid. Indien men een voldoende groot gebied beschouwt, zal het vier keer kleiner aantal punten waarschijnlijk geen grote invloed hebben op de standaardafwijking.

Naast de spreiding op de achtergrond speelt de gevoeligheid een belangrijke rol voor de detectielimiet. De manier waarop die gemiddeld daalt hangt af van het sampling interval en kan afgeleid worden uit figuur 5.8 (een gemiddelde daling van 5% zal optreden bij een maximale fout van ongeveer 10%, die verkregen wordt bij een sampling interval van $0,9\sigma$).

De manier waarop de detectielimiet op basis van de hoogte beïnvloed wordt, hangt dus vooral af van het sampling interval. Indien dit niet te groot is, zal het effect klein zijn.

Situatie B: dwell time variabel, sampling interval constant

Indien men het sampling interval constant houdt bij het meten van n nucliden in plaats van één, kan men niet anders dan de dwell time te wijzigen. Als we het effect van de settling time even buiten beschouwing laten, kan men stellen dat in dit geval de dwell time n keer korter zal worden.

Signaal

Wanneer men de piekoppervlakte (som van alle tellen) beschouwt, kan men dezelfde redenering gebruiken als in situatie A. Het meten van n nucliden zal gemiddeld een n keer lagere gevoeligheid tot gevolg hebben. Zodat de relatieve onzekerheid ook \sqrt{n} keer groter wordt.

$$\begin{array}{c}
 n \text{ nucliden i.p.v. } 1 \\
 \Downarrow \\
 I_a \div n \\
 \Downarrow \\
 \text{relatieve onzekerheid op } I_a \times \sqrt{n}
 \end{array}$$

Omdat het sampling interval constant blijft zal er geen bijkomende fout ontstaan tengevolge van digitaliseren. Situatie A indachtig kan men dus stellen dat de grootte van de piekoppervlakte I_a onafhankelijk is van de manier waarop het meten wordt uitgevoerd, op voorwaarde dat het sampling interval niet veel groter dan σ is.

In het geval het sampling interval constant blijft, zal dit wel invloed hebben op de piekhoogte I_h . De hoogte zal n keer kleiner worden omdat de dwell time n keer verkleint. Hierdoor kan men een toename van de relatieve onzekerheid met \sqrt{n} verwachten.

$$\begin{array}{c} n \text{ nucliden i.p.v. } 1 \\ \Downarrow \\ I_h \div n \\ \Downarrow \\ \text{relatieve onzekerheid op } I_h \times \sqrt{n} \end{array}$$

Dit is een van de belangrijke punten waarin situatie B verschilt van situatie A.

Achtergrond en detectielimiet

Ook voor situatie B geldt dat de invloed op de achtergrond afhankelijk is van de manier waarop men die bekijkt.

⇒ Wanneer men het signaal (van zowel de piek als de achtergrond) beschouwt als de som van alle tellen binnen een welbepaald gebied (b.v. de breedte van de piek) zal men een n keer lager signaal verwachten voor de achtergrond. Deze keer is dit niet omdat het aantal datapunten kleiner is, maar omdat het gemiddelde per datapunt n keer lager wordt. Hierdoor verwacht men ook hier een toename met \sqrt{n} van de relatieve onzekerheid (b.v. over 10 achtergrondgebieden) en dus ook dezelfde toename van de bijhorende detectielimiet (LOD_a).

n nucliden i.p.v. 1



$$\text{LOD}_a \times \sqrt{n}$$

Situatie A indachtig kan men dus stellen dat ook de waarde van de detectielimiet LOD_a onafhankelijk is van de manier waarop het meten wordt uitgevoerd op voorwaarde dat er minstens drie datapunten per piek zijn.

⇒ Wanneer men de piekhoogte beschouwt, zal de gemiddelde hoogte per datapunt n keer lager worden. Het maakt niet uit of men de achtergrond nu over een bepaald aantal tellen beschouwt of over een bepaald gebied omdat het sampling interval toch constant blijft. Bij een daling met een factor n van de gemiddelde achtergrond verwacht men een toename op de relatieve spreiding met \sqrt{n} en dus ook eenzelfde toename van de bijhorende detectielimiet (LOD_h).

n nucliden i.p.v. 1



$$\text{LOD}_h \times \sqrt{n}$$

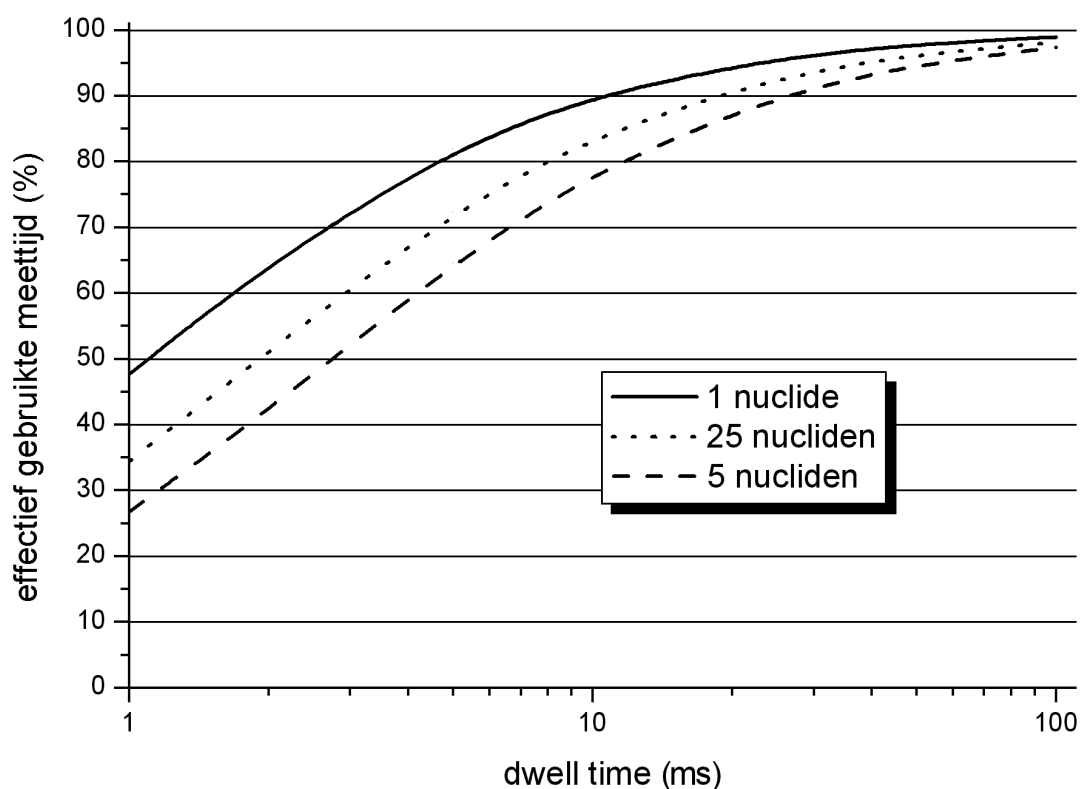
Dit is een tweede belangrijk verschil tussen situatie A en B.

Men kan dus stellen dat zowel de signaalhoogte, de onzekerheid op de signaalhoogte en de detectielimiet LOD_h afhankelijk zijn van de manier waarop het meten wordt uitgevoerd. Bijna alle eigenschappen die berekend worden op basis van piekhoogte reageren gunstig op een zo groot mogelijke dwell time. Het enige nadeel hieraan is dat het sampling interval niet te groot mag zijn (figuur 5.8). Telstatistiek en de kans op undersampling werken elkaar in de deze situatie dus tegen.

1.2.5.2 Duty cycle

In het voorgaande werd er geen rekening gehouden met de settling time van een quadrupool massafilter. Dit is de tijd die verloren gaat bij het wijzigen van de positie van het massavenster en de daaropvolgende stabilisatie. Voor de waarden van de

settling times wordt verwezen naar hoofdstuk 2. Indien men grote dwell times gebruikt zal het relatief verlies aan informatie door 'settling' klein zijn. Voor kleinere dwell times kan dit effect vaak niet meer verwaarloosd worden (zie figuur 5.9). De fractie van de tijd die effectief gebruikt wordt voor het meetproces noemt men de 'duty cycle'.



Figuur 5.9: Verband tussen de dwell time en de effectief gebruikte meettijd ('duty cycle') bij de registratie van 1-5-25 nucliden voor de HP 4500 ICP-MS.

Het optreden van verlies bij de meting van één nuclide heeft te maken met het feit dat de software van het toestel automatisch een wachttijd (ongeveer 1 ms) invoert voor elk datapunt. Het verschil tussen de curve voor 5 en 25 nucliden wordt veroorzaakt door de grootte van de gemiddelde wijziging van het massavenster. In beide gevallen lagen de nucliden verspreid over het volledige massabereik zodat de gemiddelde 'afstand' tussen de nucliden groter was in het geval er slechts 5 nucliden gemeten werden. Omdat er meer tijd verloren gaat met een grote sprong wordt de totale meettijd efficiënter gebruikt bij het meten van 25 nucliden. (Noot: dit gegeven geldt voor het HP 4500 instrument, voor sommige andere types zoals bijvoorbeeld de 'Elan 5000' is de settling time onafhankelijk van de grootte van de sprong)

Uit figuur 5.9 blijkt dat het verlies aan gegevens pas belangrijk wordt voor dwell times in de orde van milliseconden. Eens de dwell time groter dan 10 ms is, wordt het verlies minder dan ca. 20%. De extra onzekerheid door de telstatistiek als gevolg van het lagere signaal zal dus meestal zeer beperkt zijn. Stel dat men een dwell time van 10 ms gebruikt bij een meting van 10 nucliden, dan verliest men ongeveer 20% aan effectief gebruikte tijd en verkrijgt men per nuclide 8 datapunten per seconde. Voor de meeste pieken bij GC zal dit meer dan voldoende datapunten op de piek opleveren zodat er geen probleem met 'undersampling' wordt verwacht. De toename op de relatieve onzekerheid zal in dit geval enkel te wijten zijn aan de telstatistiek en slechts 12% (signaal 1,25 keer kleiner \Rightarrow relatieve onzekerheid $\sqrt{1,25}$ keer groter) bedragen, wat als nagenoeg verwaarloosbaar kan beschouwd worden.

1.2.6 Conclusie

Omdat het werken met piekoppervlakte de gangbare methode is, zal deze samenvatting beperkt worden tot die werkwijze. Op basis van theoretische gronden kan men verwachten dat:

1 nuclide \Rightarrow n nucliden

\hookrightarrow relatieve onzekerheid op $I_a \times \sqrt{n}$

\hookrightarrow $LOD_a \times \sqrt{n}$

vereist sampling interval voor Gaussiaans signaal

\hookrightarrow sampling interval hoeft niet groter dan σ te zijn (= 4 datapunten per piek)

\hookrightarrow meer datapunten per piek geen nadeel, tenzij de duty cycle zeer klein wordt.

Indien men geen Gaussiaanse fit wil toepassen hangt het af van de persoonlijke smaak van de onderzoeker hoeveel punten er voldoende zijn om van een goede

piekvorm te spreken. In vele gevallen wordt er bovendien toch gebruik gemaakt van smoothing bij het voorstellen van de gegevens. Het aantal punten dat men nodig heeft om een, vanuit persoonlijk standpunt, ‘mooie curve’ te bekomen hangt dan af van de mogelijkheden van de gebruikte software.

Zoals reeds eerder werd vermeld, is de reproductie van een signaal sterk afhankelijk van de voorkennis van het signaalprofiel. Voor signalen die geen Gaussiaans verloop kennen, zal de mogelijkheid tot een voldoende accurate reproductie sterk afhangen van het feit of ze door een wiskunde functie kunnen beschreven (of benaderd) worden, en zo ja, door welke.

1.3 Quadrupool vs. time-of-flight

Door het ontbreken van bruikbare experimentele gegevens voor zowel een TOF-analyzer als een quadrupool massaspectrometer kunnen we de confrontatie tussen de twee types massaspectrometers enkele op theoretische gronden laten plaatsvinden. Om te beginnen laten we de duty cycle even buiten beschouwing en hanteren we de detectielimiet op basis van de piekoppervlakte (LOD_a) als belangrijkste criterium. We weten dan dat voor een quadrupool massafilter de LOD bij het meten van ‘n nucliden in plaats van één’ zal toenemen met \sqrt{n} . Voor een TOF-analyzer zal de LOD_a onafhankelijk zijn van het aantal gemeten nucliden. Het verschil tussen een TOF-analyzer en een quadrupool massafilter zal dus groter worden naarmate er meer nucliden gemeten worden. Een aspect dat echter vaak vergeten wordt is dat een quadrupool massafilter en een TOF-analyzer op dit vlak niet starten vanaf hetzelfde niveau. Er wordt algemeen, doch foutief, aangenomen dat er geen informatie verloren gaat bij de registratie van transiënte signalen met TOF massaspectrometrie. Omdat de TOF-analyzer enkel pulsvormige pakketten aankan, gaat een aanzienlijk deel van de bundel verloren. Bij een Renaissance TOF-analyzer (firma Leco) wordt gedurende 12 μs de ionenstroom afgeleid richting flight tube en gaan de ionen tijdens de volgende 38 μs verloren [Vanhaecke, 2001]. Hierdoor wordt slechts een kwart van de ionen geregistreerd. Wat betreft de

introductie in de massaspectrometer kan men een TOF-analyzer dus eigenlijk vergelijken met een quadrupool massafilter die vier nucliden registreert.

Een bijkomend nadeel waarmee de huidige TOF-instrumenten te kampen hebben is het beperkte bereik van de detector [Vanhaecke, 1999], [Leach, 2000]. Voor een screening analyse waarbij men interesse heeft in een groot aantal nucliden zal een quadrupool massafilter dus beperkt worden door zijn sequentieel karakter maar zal de TOF beperkt worden door zijn kleiner bereik en lagere gevoeligheid (zie verder).

Een gebied waar de TOF het zonder discussie haalt is bij de registratie van zeer korte signalen in de orde van milliseconden of kleiner. In deze grootteorde verliest een quadrupool massafilter zeer veel efficiëntie door het 'settling' proces. Voor typische GC-signalen valt dit verlies meestal heel goed mee. Bij een dwell time van 5 ms bedraagt het verlies ongeveer 30% (figuur 5.9), zodat er in totaal nog steeds 154 dps kunnen geregistreerd worden. Indien we chromatografische pieken beschouwen met een breedte van een seconde dan kan men 38 verschillende nucliden registreren aan 4 datapunten per piek, wat meer dan voldoende blijkt te zijn. Aangezien er nauwelijks toepassingen van GC-ICP-MS zijn waarbij meer dan 10 nucliden simultaan gemeten worden, zal het effect van de duty cycle dus zelden een belangrijke rol spelen. Enkel voor de registratie van isotopische informatie kan een zeer korte dwell time aangewezen zijn om fluctuaties op te vangen. Voor dit toepassingsvlak lijkt een TOF dan ook meer aangewezen dan een quadrupool massafilter.

Hoe de absolute waarde van de LOD_a zich verhoudt voor de twee types is moeilijk te zeggen en zal sterk afhankelijk zijn van de merken die men beschouwt. Bovendien maakt het ontbreken van gedetailleerde informatie in verband met de manier waarop men de LOD berekent het vergelijken van deze parameter niet altijd eenvoudig. Naast de modulatie van de ionenbundel dragen er nog andere factoren (b.v. detectie) bij tot een lagere gevoeligheid van een TOF vergeleken met een quadrupool massafilter. Volgens Tiam et al. is de gevoeligheid van een Renaissance TOF ongeveer 10 keer lager dan van een gemiddelde quadrupool massafilter [Tiam, 1999]. De door hen gerapporteerde LOD's zijn ongeveer een grootteorde hoger. Uit experimenten bleek dat de LOD's van een quadrupool massafilter minder dan 10

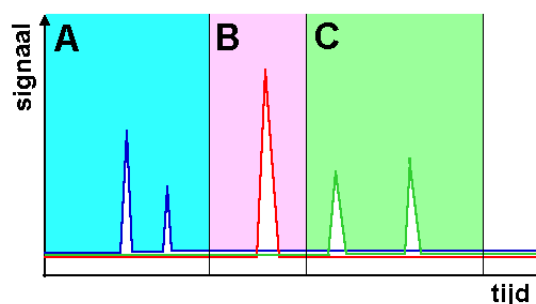
keer groter worden bij het meten van 25 nucliden in plaats van 1 (theoretisch verwacht men ongeveer een vijfvoudige toename). Men kan dus verwachten dat een quadrupool massafilter voor bijna alle reële toepassingen van GC-ICP-MS beter geschikt zal zijn dan een time-of-flight massaspectrometer.

1.4 Alternatieven

De problemen die zich stellen bij het meten van meerdere nucliden werden in het voorgaande deel aangepakt vanuit het standpunt van de scanparameters. Onder bepaalde omstandigheden kunnen er echter alternatieve methoden toegepast worden, die de gevolgen van de beperkingen van een quadrupool massafilter enigszins kunnen verminderen. Hierna worden twee methoden vermeld die theoretisch mogelijk zijn. Ze werden in dit werk echter niet in de praktijk toegepast.

1.4.1 Time programming

De software van de HP 4500 laat toe om binnen eenzelfde meting meerdere sets van meetparameters na elkaar te gebruiken. Zo kan men bijvoorbeeld in het eerste deel van een chromatogram enkel nuclide A registreren, in het tweede deel enkel nuclide B en op het einde enkel nuclide C (figuur 5.18). Vanzelfsprekend kan deze techniek enkel toegepast worden wanneer de analyse dit toelaat en zal het daarom enkel geschikt zijn om een beperkt aantal gekende verbindingen te registreren binnen een gekende toepassing. Het spreekt voor zich dat time programming niet aangewezen is bij het screenen van onbekende monsters. Van de in het laboratorium aanwezige ICP-MS toestellen beschikt enkel de HP 4500 over deze optie. Het toepassingsgebied van dit alternatief zal dus relatief beperkt zijn.



Figuur 5.18: Schematische voorstelling van time programming.

1.4.2 Aanpassen chromatografie

Door de duty cycle worden de beperkingen van een quadrupool massafilter problematischer naarmate de tijd waarin men een aantal datapunten moet meten, korter wordt. Om dit te compenseren kan men proberen de breedte van het transiënt signaal te vergroten. Het aanpassen van bepaalde chromatografisch parameters laat toe om de piekbreedte te variëren. In de meeste gevallen zal het desoptimaliseren van een onderdeel van de analyse op niet veel enthousiasme van de onderzoekers kunnen rekenen. Mogelijk kunnen er ook problemen ontstaan met piekoverlap of een afwijking van de Gaussiaanse vorm, waardoor het aangewezen zou zijn om meer datapunten te registreren en de eventuele winst terug verloren gaat. In sommige gevallen, bijvoorbeeld bij grote overresolutie, kan deze methode wel positieve effecten hebben.

1.5 Referenties hoofdstuk 5

•	Baumann, 1969	Baumann F, Herlicska E, Brown AC en Blesch J, J CHROM SCI, 1969 , 7, 680
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, doctoraatsthesis, 1998 , Universiteit Gent
•	Denoyer, 1994	Denoyer ER, ATOM SPECTROSC, 1994 , 15, 7-16
•	Feldmann, 1994	Feldmann J, Grümping R en Hirner AV, FRESENIUS J ANAL CHEM, 1994 , 350, 228-234
•	Kelly, 1973	Kelly PC en Horlick G, ANAL CHEM, 1973 , 45, 518-527
•	Laborda, 2000	Laborda F, Medrano J en Castillo JR, ANAL CHIM ACTA, 2000 , 407, 301-309
•	Leach, 2000	Leach AM, Heisterkamp M, Adams FC en Hieftje GM, J ANAL AT SPECTROM, 2000 , 15, 151-155
•	Tian, 1999	Tian X, Emteborg H en Adams FC, J ANAL AT SPECTROM, 1999 , 14, 1807-1814
•	Vanhaecke, 1999	Vanhaecke F, Moens L en Dams R, ANAL CHEM, 1999 , 71, 3297-3303
•	Vanhaecke, 2001	Vanhaecke F, voordracht voor KNCV, 2001 , Nieuwegein, Nederland

Hoofdstuk



SOLID PHASE MICROEXTRACTION (SPME)

Try not to become a man of success, but rather try to become a man of value ... (A. Einstein)

1.1 Inleiding

In dit hoofdstuk zal het gebruik van solid phase microextraction (SPME) voor de bepaling van organotinverbindingen worden toegelicht. Het SPME-onderzoek spitste zich vooral toe op TPhT en de bijhorende inwendige standaard TCT. De toepassing van SPME bij de analyse van meer vluchtige organotinverbindingen kwam reeds in een vorig proefschrift aan bod [De Smaele, 1998]. Het grootste deel van dit hoofdstuk kan dus gezien worden als een uitgebreid vervolg op dit voorgaande werk.

Hoewel SPME binnen de analyseprocedure na de monstervoorbereiding (digestie, derivatisatie) komt, zal het hier eerst besproken worden. Deze volgorde volgt grotendeels de chronologie en logica van het onderzoek. De meeste experimenten met betrekking tot de monstervoorbereiding werden namelijk uitgevoerd met de geoptimaliseerde SPME-parameters.

In het begin van dit hoofdstuk zal het basisprincipe van SPME zeer kort worden toegelicht. Voor een uitgebreid overzicht van de theorie en de vele toepassingen wordt verwezen naar de overvloedige literatuur die de afgelopen jaren over deze relatief jonge techniek is verschenen [Pawliszyn, 1997].

Vervolgens zal de aandacht uitgaan naar de optimalisatie en het onderzoek van de vele parameters die het transferproces vanuit het monster, via de fiber, naar de GC beïnvloeden. Dit alles wordt gevolgd door de 'figures of merit' van de geoptimaliseerde methode.

Op het einde van het hoofdstuk komt een toepassing aan bod waarbij gebruik werd gemaakt van SPME. Op vraag van enkele onderzoekers uit de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de Universiteit Gent werd TBut bepaald in waterige oplossingen die gebruikt werden bij blootstellingsexperimenten op garnalen. De analyse van vaste monsters zal in het volgende hoofdstuk behandeld worden.

1.2 Principe

1.2.1 Historiek

Solid phase microextraction werd in 1990 geïntroduceerd door Arthur en Pawliszyn als nieuw introductiesysteem voor GC [Arthur, 1990]. De auteurs maakten gebruik van fused silica fibers met (of zonder) een polyimide coating voor de extractie van vluchtige organochloorverbindingen uit water. Desorptie in een aangepaste on-column injector resulteerde in aanvaardbare signalen die echter vrij veel tailing vertoonden. Korte tijd later konden de prestaties verbeterd worden door gebruik te maken van cryofocussing [Arthur, 1992]. Bijna even goede resultaten werden bekomen door gebruik te maken van een nauwere injectieliner die een snellere desorptie toeliet [Yang, 1994]. De firma Supelco zorgde voor de doorbraak van de techniek met de commerciële introductie van SPME fibers met verschillende soorten coatings, fiber holders (figuur 6.1), een introductiesysteem voor HPLC, enz. Begin 2002 leverde een zoekopdracht op het 'Web of Science' al meer dan 1400 hits op. SPME blijkt zich uitstekend te lenen voor kwalitatieve analyses (screening), maar laat ook, mits de nodig voorzorgen, kwantitatieve bepalingen toe.

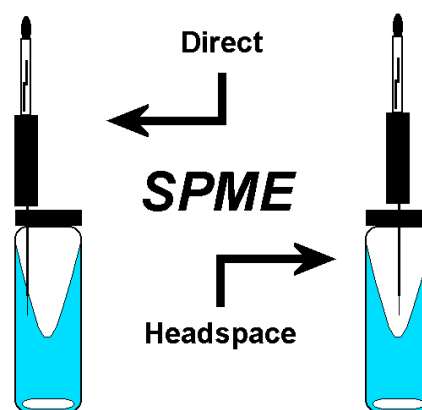


Figuur 6.1: De commercieel verkrijgbare SPME fiber holder van Supelco.

1.2.2 Thermodynamica

SPME is gebaseerd op de verdeling van componenten over een meefasensysteem. In de klassieke vorm onderscheidt men drie fasen: een waterige fase (het monster), een gasfase (de headspace) en de fibercoating. Afhankelijk van het soort coating kan

er sprake zijn van absorptie (soms gewoonweg 'sorptie' genoemd) of adsorptie. De fiber wordt ofwel in de waterige fase geplaatst: 'direct SPME' of in de gasfase: 'headspace SPME' (figuur 6.2).



Figuur 6.2: Direct en headspace SPME in een geroerde oplossing.

Uit de thermodynamische beginselen volgt dat een verbinding zich in een drie-fasen systeem zal verdelen zodat de chemische potentiaal in alle fasen gelijk is:

$$\mu_f = \mu_h = \mu_s$$

Waarbij μ_f , μ_h en μ_s de chemische potentialen zijn in de fiber, de headspace en het monster. Als we er van uitgaan dat er geen chemische reacties plaatsvinden in het systeem, dan zal de totale concentratie van een analiet in het drie-fasen systeem niet wijzigen. Men kan dan stellen dat:

$$C_0 V_s = C_f^\infty V_f + C_h^\infty V_h + C_s^\infty V_s \quad (1)$$

Waarbij C_0 gelijk is aan de initiële concentratie in het monster (waterige fase); C_f^∞ , C_h^∞ en C_s^∞ zijn de evenwichtsconcentraties in fiber, headspace en waterige fase; V_s , V_f en V_h zijn de volumes van waterige fase, de fiber en de headspace. Na enkele substituties bekomt men volgende vergelijking voor n : de massa van het analiet in de coating, bij evenwicht:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{K_{fs} V_f + K_{hs} V_h + V_s} \quad (2)$$

Waarbij K_{fs} gelijk is aan C_f^∞ / C_s^∞ en K_{hs} gelijk aan C_h^∞ / C_s^∞ . K_{fs} kan bovendien ook geschreven worden als K_{fh} . K_{hs} waarbij K_{fh} gelijk is aan C_f^∞ / C_h^∞ . Uit vergelijking (2)

kunnen twee belangrijke conclusies getrokken worden. Ten eerste blijkt dat, bij evenwicht, de hoeveelheid analiet in de fiber rechtstreeks evenredig is met de initiële concentratie in het monster. Ten tweede blijkt dat de hoeveelheid (of concentratie) in de fiber, bij evenwicht, onafhankelijk is van de plaats van de fiber (monster of headspace). Wanneer men direct SPME uitvoert in een vial met een zeer kleine of zelfs geen headspace ($V_h \ll$), of van een weinig vluchtige verbinding ($K_{hs} \ll$), kan de term $K_{hs}V_h$ vaak verwaarloosd worden.

Omdat de extractiefase vaak veel kleiner is dan de andere fasen zal SPME zelden kwantitatief zijn. In een systeem met vaste dimensies zal de gevoeligheid bepaald worden door de distributieconstanten. K_{hs} kan vaak op basis van fysicochemische data berekend worden. K_{fh} kan afgeleid worden uit de retentietijden van de betrokken verbindingen voor een kolom met een stationaire fase gelijk aan de fiber coating (meestal polydimethylsiloxaan, PDMS). Dit is mogelijk omdat het verdelingsproces bij GC analoog is aan het partitieproces bij SPME en de retentietijd rechtstreeks in verband staat met de verdeling van een verbinding over de twee fasen.

Vergelijking (2) geldt enkel wanneer men gebruik maakt van vloeibare fasen zoals 100% polydimethylsiloxaan (PDMS). Hoewel het er als een vaste stof uitziet, is PDMS in feite een hoog-viskeuze rubberachtige coating. Andere fasen zoals PDMS/DVB (divinylbenzeen), Carbowax/DVB, etc. gedragen zich eerder als vaste (poreuze) materialen en extraheren verbindingen eerder door middel van adsorptie dan door absorptie. Voor de vereenvoudigde situatie, waarbij de term $K_{hs}V_h$ verwaarloosd kan worden, geldt volgende vergelijking:

$$n = \frac{K V_f V_s C_0 (C_{fmax} - C_f^\infty)}{K V_f (C_{fmax} - C_f^\infty) + V_s} \quad (3)$$

Waarbij $K = [A_{ad}]/([A][S])$ met $[A_{ad}]$ de oppervlakteconcentratie, $[A]$ de concentratie in het monster en $[S]$ de concentratie onbezette sites. Deze K kan dus vergeleken worden met de K_{fs} uit vergelijking (2). C_{fmax} stelt de maximale concentratie op de coating voor. Voor zeer lage concentraties op de fiber ($C_{fmax} \gg C_f^\infty$) neemt

vergelijking (3) een vorm aan die enigszins vergelijkbaar is met vergelijking (2). Vergelijking (3) geldt in principe enkel wanneer er slechts één verbinding wordt geadsorbeerd. In de praktijk zullen vaak meerdere verbindingen geadsorbeerd worden en komt er in de noemer van vergelijking (3) een term die de affiniteit en de concentratie van andere verbindingen bevat.

In de praktijk is het onderscheid tussen ad- en absorptie niet altijd even duidelijk en zal een absorptieproces steeds voorafgegaan worden door een adsorptieproces. Hoe men het proces het best kan beschouwen, zal afhangen van de tijdschaal, diffusiecoëfficiënten in de coating, enz.

In reële situaties zullen er vrijwel steeds meer dan drie fasen aanwezig zijn. Afhankelijk van de karakteristieken van de te bepalen verbinding(en) kunnen de glaswand, de roervlo, organische macromoleculen uit de monstermatrix, enz. een rol spelen. Uit vergelijking (1) volgt dat de aanwezigheid van een extra fase de evenwichtsconcentratie in de fiber zal verlagen en er dus signaalonderdrukking zal optreden.

[Pawliszyn, 1997] en [Gorecki, 1999]

1.2.3 Kinetiek

Bij de aanvang van een SPME-proces vertrekt men meestal van een systeem dat in evenwicht was. De introductie van een extra fase dwingt het systeem om over te gaan naar een nieuwe evenwichtssituatie. De tijd die nodig is om tot dit nieuwe evenwicht te komen hangt af van de snelheid van de massatransfer 'in' en 'tussen' de verschillende fasen. Hierbij spelen diffusiecoëfficiënten, concentratiegradiënten en fasedimensies een belangrijke rol. De diffusiecoëfficiënten in de headspace zijn meestal verschillende grootteorden groter dan in de andere fasen, waardoor de diffusie in de headspace zelden snelheidsbepalend zal zijn.

De dimensies van de verschillende fasen spelen ook een zeer belangrijke rol. Hoewel de diffusiecoëfficiënt in de coating meestal kleiner is dan in de waterige fase, zal de massatransfer in de waterige fase vaak trager zijn omdat het volume van die

fase meestal veel groter is dan van de coating (voor commercieel verkrijgbare fibers is het maximumvolume 0,6 μL).

Naast de diffusiecoëfficiënten en de fasedimensies zijn concentratiegradiënten in de verschillende fasen ook van belang. Uit de Eerste Wet van Fick blijkt dat de diffusiesnelheid afhankelijk is van de diffusiecoëfficiënt (D) en de concentratiegradiënt ($\delta c/\delta x$).

$$J = -D \frac{\delta c}{\delta x}$$

Waarbij J de flux van het analiet is. In de headspace zijn de diffusiecoëfficiënten relatief groot, maar worden concentratiegradiënten kleiner en kleiner naarmate de verbindingen minder vluchtig zijn. Hierdoor is het transport van weinig vluchtige verbindingen vaak zeer traag en kan het soms heel lang duren alvorens evenwicht bereikt wordt. De tijd die nodig is om evenwicht te bereiken is in theorie oneindig. In de praktijk beschouwt men daarom meestal de tijd waarbij 95% van de evenwichtsconcentratie geëxtraheerd is ($t_{95\%}$). Voor verbindingen met relatief weinig affiniteit voor de fiber ($K_{fs} \ll 1000$) zal een lage vluchtigheid weinig invloed hebben op $t_{95\%}$ bij headspace SPME omdat de geëxtraheerde massa vooral afkomstig is van verbindingen die zich reeds in de headspace bevonden. In dit geval moeten er dus zeer weinig verbindingen uit de waterige fase, door de headspace, aangevoerd worden. Voor verbindingen met een grote affiniteit voor de fiber ($K_{fs} > 1000$) en een beperkte vluchtigheid kan $t_{95\%}$ in de orde van uren/dagen zijn en is het voor praktische toepassingen onrealistisch om zo lang te wachten. Voor kwalitatieve analyses vormt werken met extractietijden kleiner dan $t_{95\%}$ geen enkel probleem (op voorwaarde dat de gevoeligheid nog voldoende hoog is). Kwantitatieve analyses worden iets minder eenvoudig, maar blijven toch mogelijk mits het constant houden van de extractietijd (of het gebruik van isotopendilutie).

Beschouwen we eerst het systeem als zijnde in een steady-state toestand, waarbij de massatransfer van het monster naar de headspace gelijk is aan de massatransfer van de headspace naar de fiber. In het geval van headspace SPME kan men dan

stellen dat de concentratie in de headspace constant blijft. Zowel voor direct als headspace SPME kan men onder de vooropgestelde omstandigheden afleiden dat voor de geëxtraheerde hoeveelheid n op het tijdstip t geldt:

$$n = n^{\infty} [1 - e^{(-a \cdot t)}] \quad (4)$$

Waarbij n^{∞} de geëxtraheerde hoeveelheid bij evenwicht is en a een constante die afhankelijk is van diffusiecoëfficiënten, dikte van de diffusie laag en fasevolumes. Hoe groter a is, hoe sneller $t_{95\%}$ bereikt zal worden. Op basis van parameter a kan men $t_{95\%}$ berekenen door de term tussen de vierkante haakjes uit vergelijking (4) gelijk te stellen aan 0,95. Na omvormen bekomt men volgend verband tussen a en $t_{95\%}$:

$$t_{95\%} = 3 \cdot a^{-1} \quad (5)$$

Uit vergelijking (4) volgt dat bij een welbepaalde tijd t , n evenredig is met n^{∞} , die op zijn beurt evenredig is met C_0 . Voor een zeer lange retentietijd gaat vergelijking (4) over in vergelijking $n = n^{\infty}$. Wanneer $a \cdot t$ klein is, kan vergelijking (4), rekening houdend met $[1 - e^{-x} = x \text{ voor } x \ll 1]$ geschreven worden als:

$$n = n^{\infty} \cdot a \cdot t \quad (6)$$

Bij het begin van de extractie kan men dus een lineair verband tussen n en t verwachten.

De situatie wordt complexer wanneer men ze niet door een steady-state toestand kan benaderen (wat zich mogelijk kan voordoen kort na de verstoring van het systeem door het inbrengen van de fiber). Maar ook onder deze omstandigheden kan men aantonen dat bij constante extractietijd de geëxtraheerde hoeveelheid recht evenredig zal zijn met de beginconcentratie in het monster. Het extractieprofiel zal echter van een meer complexe vorm zijn dan verwacht op basis van vergelijking (4).

[Ai, 1998]

Men kan verwachten dat de temperatuur een groot effect zal hebben op de kinetiek en de thermodynamica van het SPME-proces. Een korte theoretische beschouwing

hierover zal aan bod komen bij de beschrijving van de optimalisatie van deze parameter.

1.3 Optimalisatie

1.3.1 Inleiding

Voor de optimalisatie van SPME komen veel parameters in aanmerking. Naast de parameters die enkel een effect hebben op de extractie of desorptie zelf, kunnen bepaalde parameters ook digestie en/of derivatisatie beïnvloeden wat de zaak nog complexer kan maken dan ze op zich al is. Bij de optimalisatie werd meestal gebruik gemaakt van standaardoplossingen die verdund werden met een bufferoplossing met pH 8-9 (meer hierover in het volgende hoofdstuk). Zonder enige voorkennis van de te verwachten effecten zou ‘factor design’ misschien meer aangewezen zijn geweest dan een sequentiële aanpak. In de meeste gevallen weet men echter welke trend men kan verwachten, en wordt het experiment vooral uitgevoerd om te bepalen ‘hoeveel’ een bepaalde parameter de extractie beïnvloed en in welke mate de fixatie ervan noodzakelijk is.

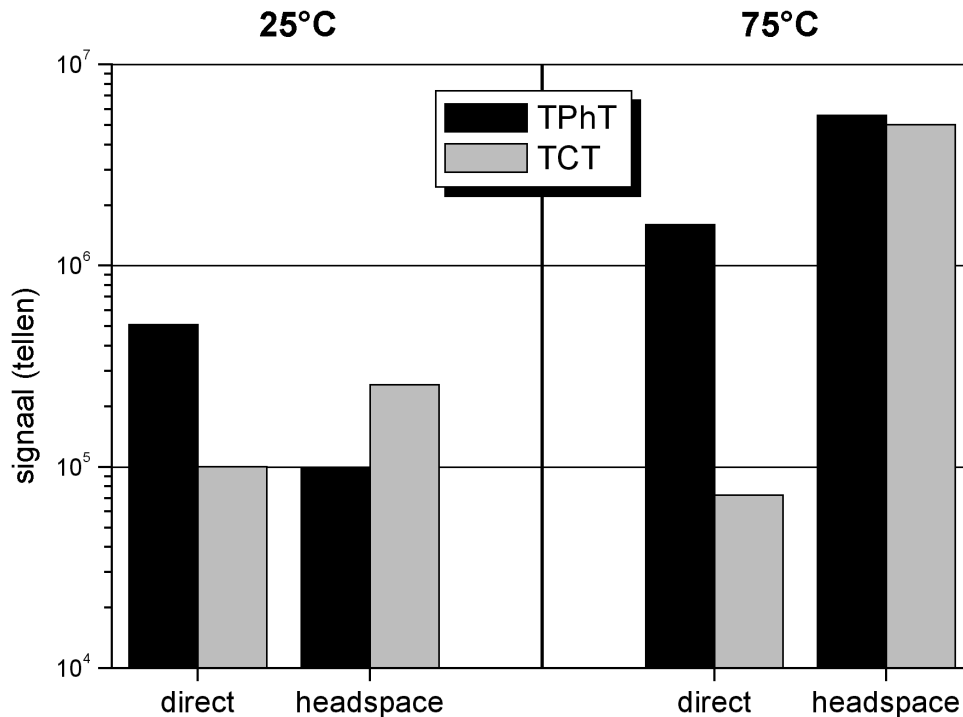
De optimalisatie van SPME werd uitgevoerd voor TPhT. In de meeste gevallen werd het gedrag van TCT (de inwendige standaard voor TPhT) met bijna evenveel interesse gevolgd. Een vergelijkbare trend voor TPhT en TCT voor een bepaalde parameter betekent namelijk dat er minder noodzaak is om deze parameters zeer nauwkeurig te fixeren. Het omgekeerde is natuurlijk ook waar: parameters die een verschillend effect uitoefenen op het gedrag van de twee verbindingen verdienen extra aandacht. Tenzij anders vermeld, werd er gebruik gemaakt van een oplossing met een hoeveelheid organotin in de orde van 5 ng TPhT en 5 ng TCT (de exacte hoeveelheid varieerde naargelang er nieuwe stockstandaarden werden gemaakt). De optimalisatie-experimenten werden, net als in het vorig onderzoek van De Smaele, gestart met een PDMS fiber met een filmdikte van 100 µm.

1.3.2 Headspace vs. direct SPME

Bij evenwicht speelt het voor de concentratie van een analiet in theorie geen rol waar de fiber zich bevindt. De keuze voor direct of headspace SPME zal dus beïnvloed worden door de kinetiek en/of de matrixsamenstelling. Indien een verbinding vluchtig genoeg is, zal headspace extractie meestal sneller zijn dan een directe aanpak omdat diffusie in de headspace veel sneller is. Voor minder vluchtige verbindingen met een grote affiniteit voor de fibercoating kan de lage concentratie (en kleinere concentratiegradiënt) de transfersnelheid door de headspace klein maken en kan direct SPME voordeliger zijn. Voor complexe monsters kan headspace SPME aangewezen zijn om contact met de matrix te vermijden. In oplossingen met veel organisch materiaal zouden grote organische moleculen of zelfs deeltjes zich aan het fiberoppervlak kunnen hechten en het extractieproces verstoren. De kans bestaat ook dat bepaalde stoffen de coating gaan aantasten. In vele gevallen zullen deze effecten leiden tot sterke afname van de reproduceerbaarheid en een verkorting van de levensduur van de fiber. Indien mogelijk zal men dus in deze gevallen steeds de voorkeur geven aan het werken met headspace SPME.

Omdat de kinetiek en de 'vluchtigheid' van de verbinding een essentiële rol spelen in deze materie kan men het effect van de temperatuur niet negeren. Voor TPhT en TCT werden headspace en direct SPME daarom vergeleken bij kamertemperatuur (25°C) en verhoogde temperatuur (75°C). De extractietijd bedroeg steeds 10 minuten en de oplossingen werden 10 minuten voor de extractie in het thermostatisch bad gebracht. De resultaten, na kleine correctie voor het verschil in toegevoegde concentratie, zijn weergegeven in figuur 6.3. Bij een hogere temperatuur verwacht men:

- snellere diffusie (vooral van belang in de waterige fase)
- relatief meer verbindingen in de headspace
- verschuiving van het evenwicht weg van de coating (relatief meer desorptie)



Figuur 6.3: Vergelijking van direct en headspace extractie van TPhT en TCT gedurende 10 minuten bij 25°C en 75°C.

Op basis van de experimentele data kan men volgende uitspraken doen:

1. bij 25°C en bij 75°C is headspace SPME verschillend van direct SPME
2. headspace SPME bij 75°C geeft voor TPhT en voor TCT het beste resultaat
3. bij 25°C geeft direct SPME betere resultaten voor TPhT dan headspace SPME
4. bij 25°C geeft headspace SPME betere resultaten voor TCT dan direct SPME
5. bij 75°C is het verschil tussen direct en headspace SPME groter voor TCT dan voor TPhT
6. bij 75°C zijn zowel direct als headspace SPME beter dan bij 25°C voor TPhT
7. headspace SPME is beter bij 75°C dan bij 25°C voor TCT
8. direct SPME is minder goed bij 75°C dan bij 25°C voor TCT

Waaraan men volgende verklaringen/hypothesen zou kunnen koppelen:

↪ 1: bij 25°C of 75°C is er vermoedelijk nog geen evenwicht voor TPhT en TCT

↪ 3+4+5: TCT is waarschijnlijk relatief meer in de headspace aanwezig dan TPhT

Direct SPME:

↳ 6: voor TPhT weegt de afname in de waterige fase niet op tegen de snellere diffusie en de minder voordelige thermodynamica.

↳ 8: Voor TCT weegt de snellere diffusie bij hogere temperatuur blijkbaar niet op tegen de afname in de waterige fase of de minder voordelige thermodynamica. Welke van deze twee nadelige effecten het belangrijkste is valt moeilijk te zeggen.

Headspace SPME

↳ 6+7: de toename in de headspace bij hogere temperatuur heeft voor beide verbindingen meer effect dan de nadelige verschuiving van het evenwicht. Voor TPhT is de verbetering veel meer uitgesproken dan voor TCT. Dit kan ofwel te wijten zijn aan een grotere relatieve toename in de headspace voor TPhT of aan een meer nadelige verschuiving van het evenwicht voor TCT.

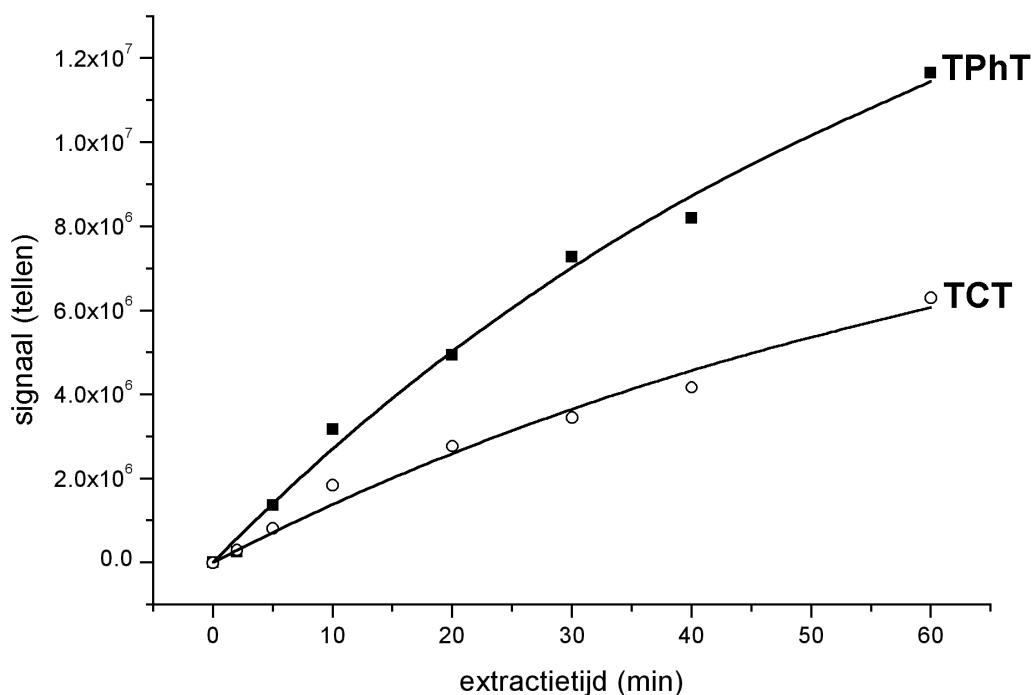
Op basis van alle bovenstaande observaties zou men kunnen vermoeden dat een nadelige verschuiving van het evenwicht veel minder effect heeft dan de toegenomen concentratie in de headspace, waar de extractie veel sneller gebeurt. Het grote verschil in opbrengst bij headspace SPME aan hogere temperatuur maakt het kleine ongemak dat gepaard gaat met het werken in een thermostatisch bad zeker verantwoord.

Tot slot kan er nog op gewezen worden dat er een opvallende gelijkenis werd gevonden tussen de hier gevonden relatieve opbrengsten voor TPhT en de in de literatuur vermelde relatieve opbrengsten voor enkele PCBs [Llompart M, 1998].

1.3.3 Extractietijd

De invloed van de extractietijd op het signaal van TPhT en TCT voor headspace SPME bij 75°C is weergegeven in figuur 6.4. Op basis van vergelijking (4), die de opbrengst in functie van de tijd beschrijft, werd curve-fitting toegepast. Omdat het al dan niet beschouwen van de meting met een extractietijd van 60 minuten een vrij grote invloed had, zijn de resultaten voor de fitting met en zonder dit meetpunt weergegeven in tabel 6.1. Om te corrigeren voor het verschil in toegevoegde

concentratie voor TPhT en TCT, werd het berekende 'signaal bij evenwicht' (n^∞) gedeeld door de hoeveelheid in de oplossing om een gecorrigeerde waarde te bekomen (n_{corr}^∞). De waarde voor $t_{95\%}$, die enkel afhangt van parameter a , werd berekend op basis van vergelijking (5).



Figuur 6.4: Extractieprofiel van TPhT en TCT voor headspace SPME bij 75°C.

Hoewel er een vrij groot verschil is tussen de berekende $t_{95\%}$ -waarden, is het toch overduidelijk dat werken bij evenwicht in de praktijk onrealistisch zou zijn. Voor verdere optimalisatie en toepassing werd een extractietijd van 10 minuten gekozen. Deze periode is iets korter dan de cyclus van de GC (ovenprogramma + afkoeling) zodat een optimale monsterverwerking bekomen wordt. Indien een praktische toepassing het vereist, kan de extractietijd verhoogd worden om de gevoeligheid te verbeteren.

Wanneer men het signaal na 10 minuten vergelijkt met n^∞ , vindt men voor TPhT 16% en voor TCT 17% relatieve opbrengst. Indien men enkel de punten tot 40 min beschouwt, vindt men voor TPhT 24% en voor TCT 35%. Omdat elk punt uit de curve slechts uit één enkel meetpunt bestaat dient men deze waarden met een zeker voorbehoud te beschouwen. Een kleine verschuiving van enkele punten op de curve

kan namelijk al een aanzienlijke verschuiving in de berekende percentages veroorzaken.

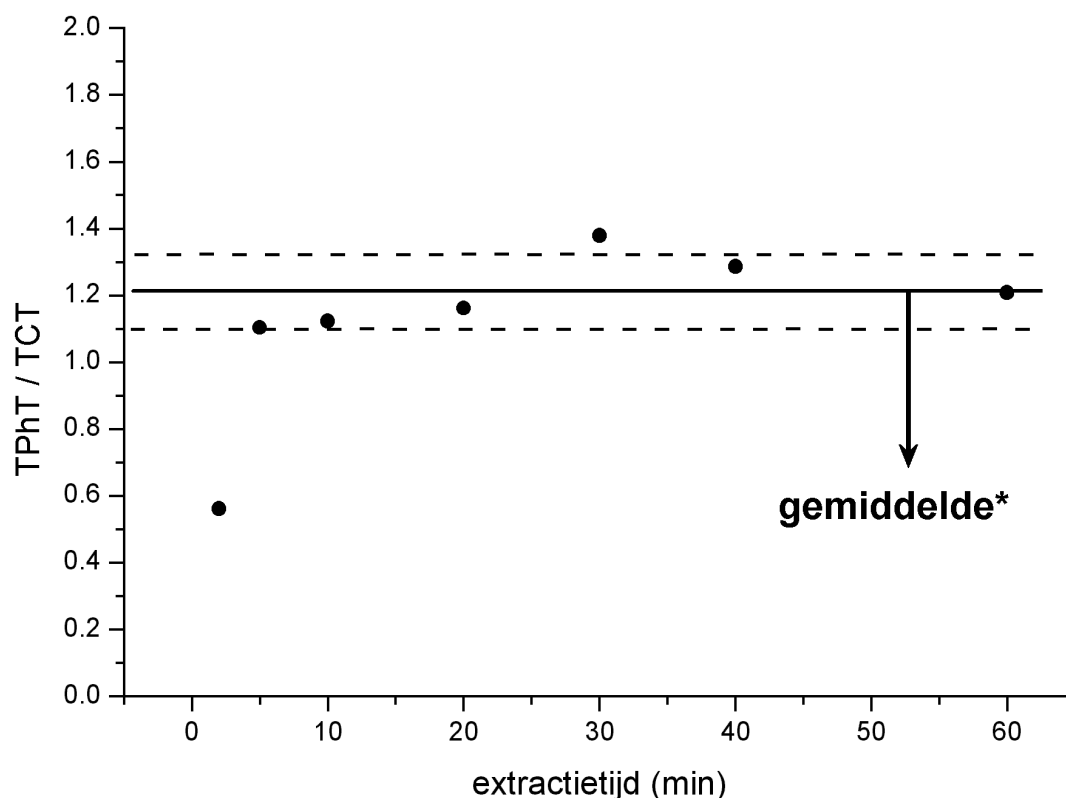
Tabel 6.1: Best passende waarden voor de parameters n^∞ en a voor de extractieprofielen van TPhT en TCT en de bijhorende afgeleide parameters n_{corr}^∞ en $t_{95\%}$.

$n = n^\infty [1 - e^{(-a \cdot t)}]$					
	tijdspanne (min)	n^∞ (tellen)	n_{corr}^∞ (tellen.ng ⁻¹)	a (min ⁻¹)	$t_{95\%}$ (min)
TPhT	0 tot 40	$13,3 \cdot 10^6$	$1,76 \cdot 10^6$	0,02454	122
$\pm 95\% \text{ c.i.}$		$2,3 \cdot 10^6$	$0,30 \cdot 10^6$	0,00616	
TPhT	0 tot 60	$19,1 \cdot 10^6$	$2,64 \cdot 10^6$	0,01527	196
$\pm 95\% \text{ c.i.}$		$2,9 \cdot 10^6$	$0,38 \cdot 10^6$	0,03230	
TCT	0 tot 40	$5,2 \cdot 10^6$	$1,05 \cdot 10^6$	0,03823	78
$\pm 95\% \text{ c.i.}$		$4,5 \cdot 10^6$	$0,91 \cdot 10^6$	0,05958	
TCT	0 tot 60	$10,9 \cdot 10^6$	$2,20 \cdot 10^6$	0,01360	220
$\pm 95\% \text{ c.i.}$		$3,0 \cdot 10^6$	$0,61 \cdot 10^6$	0,00509	

In figuur 6.5 is de verhouding van het TPhT-signaal op het TCT-signaal, na correctie voor het verschil in gebruikte concentratie, weergegeven. Het meetpunt bij twee minuten buiten beschouwing gelaten, komen de waarden vrij goed overeen (standaardafwijking van 10%) en is er geen stijgende of dalende trend waarneembaar. Het gebruik van TCT als inwendige standaard voor TPhT om te corrigeren voor verschillen inzake de extractietijd lijkt daarom gerechtvaardigd.

Of de extractieopbrengst bij evenwicht voor TPhT groter is dan voor TCT, valt niet met zekerheid te zeggen op basis van tabel 6.1. Indien men voor beide verbindingen dezelfde tijdsduur beschouwt (wat ook de meest logische benadering is), dan vindt men in tabel 6.1 in beide gevallen een grotere opbrengst voor TPhT. Het verschil met TCT is echter niet significant. Het feit dat er in figuur 6.5 geen trend te bespeuren valt, geeft ook een extra aanwijzing. Een constante verhouding van de

geëxtraheerde hoeveelheid in de tijd kan zich maar in enkele situaties voordoen. In het begin van het extractieprofiel verwacht men een lineaire trend, gegeven door vergelijking (6). Uit de profielen blijkt echter duidelijk dat een afbuiging van het lineair gedrag waarneembaar is voor extractietijden groter dan 10 minuten, zodat dit initieel lineair gedrag de afwezigheid van een trend niet kan verklaren. Een andere mogelijke verklaring voor een constante verhouding is dat de a-waarde voor beide verbindingen sterk vergelijkbaar is.



Figuur 6.5: Verhouding van TPhT-sigitaal op TCT-sigitaal (na correctie voor de oorspronkelijke concentratie) in functie van de extractietijd voor headspace SPME bij 75°C. *gemiddelde en 95% confidentie-interval (stippellijn): berekend zonder het eerste datapunt.

De absolute waarde van de verhouding TPhT/TCT dient met zekere voorzichtigheid beschouwd te worden omdat men de derivatisatieopbrengst voor de verbindingen niet kent. In het volgende hoofdstuk zal dieper op deze materie worden ingegaan.

Tot slot kunnen we er nogmaals op wijzen dat vergelijking (4) een benadering is die uitgaat van een steady-state toestand. Wanneer men meer zekerheid zou willen over het feit of deze benadering bruikbaar is of niet, zou men meer punten moeten registreren (vooral in het begin van de curve) en ook verschillende herhalingen

moeten uitvoeren. De mate waarin de parameters voor het begin van de curve overeenkomen met de volledige curve zou dan een aanwijzing zijn voor de bruikbaarheid van de benadering. Omdat er bij het experiment een beperkte acclimatisatieperiode in het thermostatisch bad werd ingelast, kan men niet uitsluiten dat de opbrengst onderschat werd (omdat de temperatuur 'in de vial' de 75°C mogelijk nog niet bereikt had bij de start van de extractie). Deze onderschatting zou natuurlijk het grootste relatief effect hebben op de datapunten met de kortste extractietijd. Indien deze onderschatting effectief gebeurd zou zijn, dan zijn de getabelleerde waarden voor n^{∞} en $t_{95\%}$ overschat, en de na 10 minuten bekomen fracties van de evenwichtsconcentratie onderschat.

1.3.4 Extractietemperatuur

Kinetiek

Voor headspace SPME zal het verhogen van de temperatuur meestal een positief effect hebben op de kinetiek omdat diffusie in de waterige fase sneller is en omdat de concentratie (en dus ook de concentratiegradiënt) in de headspace groter zal zijn waardoor het transport van de waterige fase naar de fiber versneld zal worden. Voor direct SPME is de snellere diffusie in de waterige fase ook voordelig, maar kan de lagere concentratie in de waterige fase nadelig zijn. Het verschuiven van het evenwicht weg van de coating kan voor zowel headspace als direct SPME de concentratiegradiënten beïnvloeden waardoor de diffusiesnelheid mogelijk benadeeld wordt.

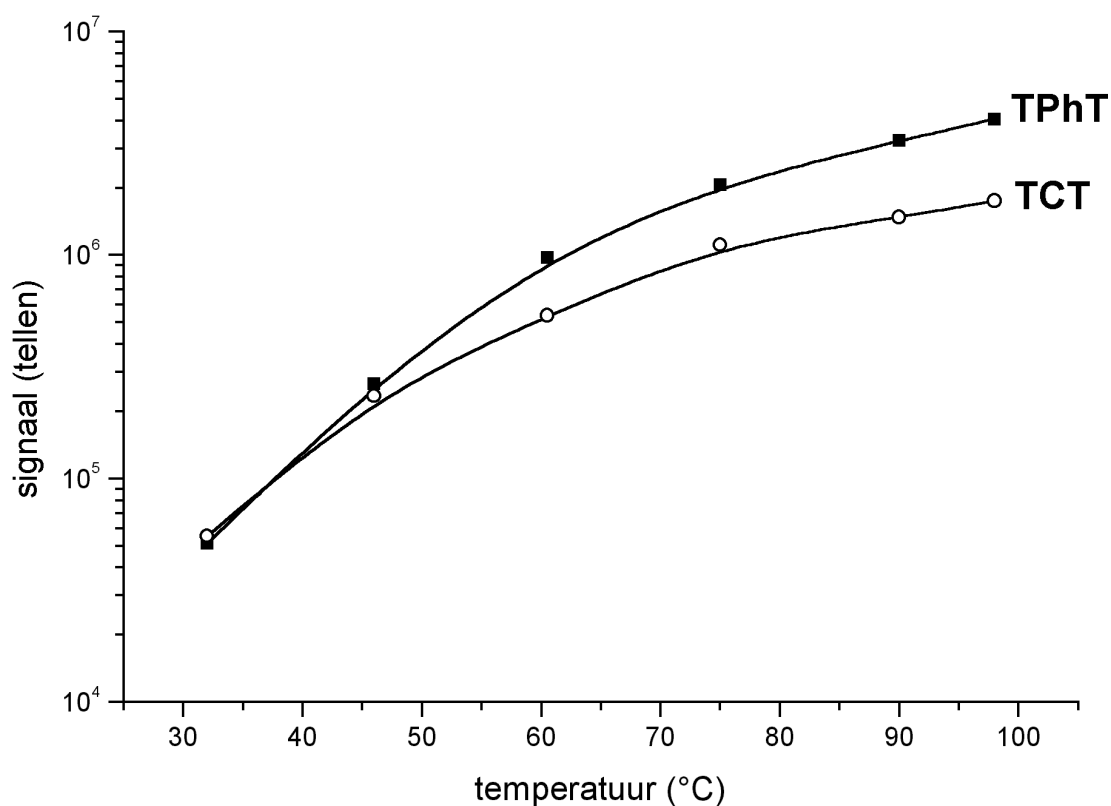
Thermodynamica

Op basis van het principe van Le Châtelier kan men verwachten dat de temperatuur meestal een nadelig effect zal hebben op het extractie-evenwicht omdat absorptie in de coating vanuit het monster vaak een exotherm proces is. Voor een iets minder intuïtieve benadering kan men gebruik maken van een vergelijking die een verandering van K_{fs} weergeeft in functie van een verandering van temperatuur T_1 naar een andere temperatuur T_2 :

$$K_{fs2} = K_{fs1} \exp \frac{\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right)$$

Waarbij K_{fs1} en K_{fs2} de distributieconstanten zijn bij T_1 en T_2 , ΔH de molaire enthalpieverandering voor de overgang van fiber naar monster (desorptie) en R de gasconstante. Binnen een normaal temperatuurgebied dat gebruikt wordt bij SPME, kan ΔH als constant beschouwd worden. Voor de overgang van geëthyleerd TPhT of TCT van PDMS naar een waterige fase verwacht men dat ΔH positief is (endotherm proces) zodat voor $T_2 > T_1$ geldt dat K_{fs} kleiner wordt.

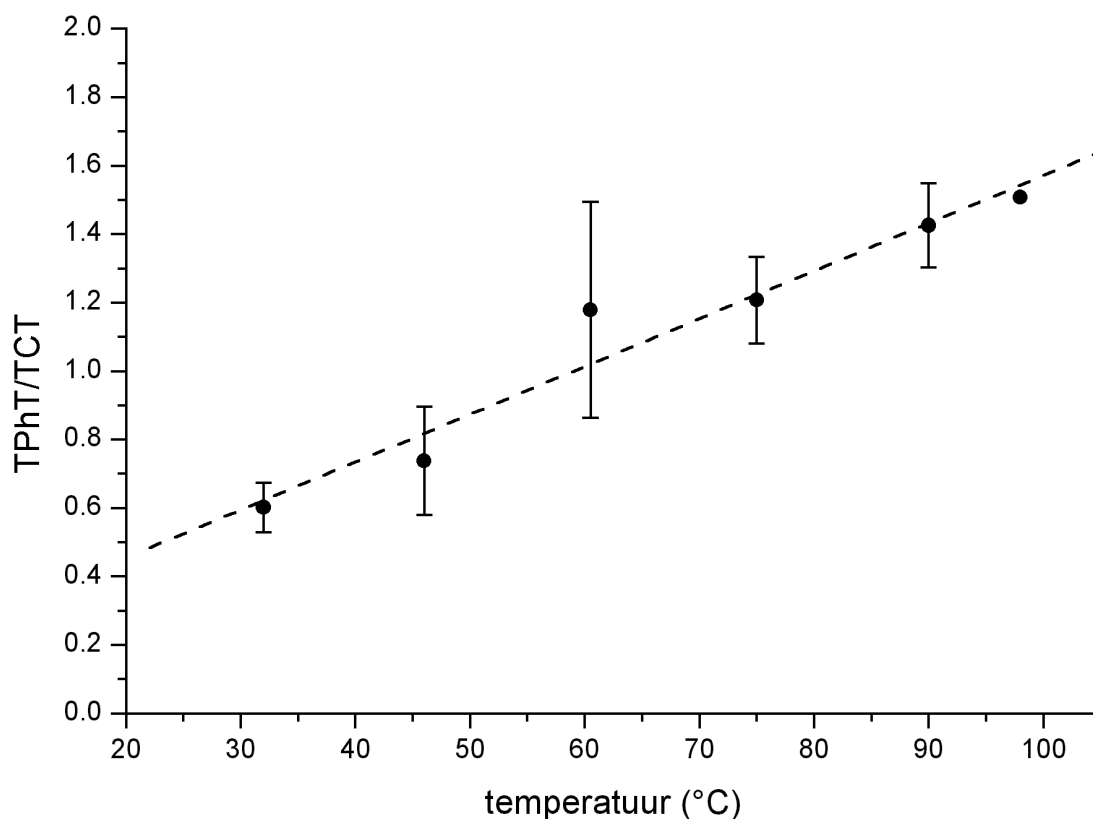
Naast het effect van kinetiek en thermodynamica zal de toegenomen druk in de headspace waarschijnlijk ook een rol spelen in het extractieproces. Het cumulatief effect van al deze factoren maakt het zeer moeilijk om vanuit de theorie voorspellingen te doen over het effect van de temperatuur.



Figuur 6.6: Invloed van de temperatuur op het signaal van TPhT en TCT voor 10 minuten headspace SPME.

Omdat er bij praktische extractietijden nog lang geen sprake is van evenwicht kan men verwachten dat bij een extractietijd van 10 minuten zowel de kinetiek als de thermodynamica zullen meespelen. De resultaten van een experiment waarbij de invloed van de temperatuur op het signaal van TPhT en TCT voor headspace SPME gedurende 10 minuten werd nagegaan, is weergegeven in figuur 6.6. Op de figuur is duidelijk te zien dat de temperatuur een groot en positief effect heeft voor TPhT en TCT. In principe is er voor elke extractietijd een optimale temperatuur (waarbij de opbrengst maximaal is) voor de combinatie van kinetiek en thermodynamica. Uit het onderzoek van De Smaele bleek dat die optimale temperatuur voor meer vluchtige verbindingen (butyltinverbindingen) tussen 20°C en 80°C lag. Voor TPhT en TCT ligt de optimale temperatuur voor 10 minuten headspace SPME duidelijk buiten het werkbaar bereik. In de praktijk blijkt dat werken bij temperaturen boven 75°C al voor heel wat problemen zorgt, door de snelle verdamping van het water uit het thermostatisch bad en de hoge druk die ontstaat in de vial. Voor de meeste toepassingen en verdere optimalisatie werd besloten om bij 75°C te werken. Indien de detectiekracht voor bepaalde monsters onvoldoende zou blijken te zijn, kan de temperatuur eventueel tot 85°C verhoogd worden.

De verhouding van het TPhT-signaal op het TCT-signaal in functie van de temperatuur is weergegeven in figuur 6.7 (er werd eveneens gecorrigeerd voor het verschil in de oorspronkelijke concentratie in de oplossing). In tegenstelling tot de invloed van de extractietijd blijkt er hier wel een duidelijke trend aanwezig te zijn die binnen het onderzochte gebied als lineair kan beschouwd worden. Hoewel de helling relatief vlak is (ca. 2% per °C) en TCT een beperkte instabiliteit in de temperatuur (met een kleine fout) kan opvangen, lijkt het toch aangewezen om de temperatuur zo goed mogelijk te fixeren. Het warmwaterbad dat tijdens dit werk gebruikt werd, laat toe om de temperatuur tot op 0,1°C constant te houden, zodat er op dit vlak geen grote problemen verwacht worden. Het effect van de temperatuur zal waarschijnlijk meer een rol spelen bij de 'acclimatisatie' van de vial voor de extractie. Voor praktische analyses werd binnen een reeks monsters meestal het (n+2)^e monster in het thermostatisch bad geplaatst wanneer gestart werd met de extractie van het n^e monster. Deze werkwijze kwam dus meestal neer op een acclimatisatietijd van 20 tot 30 minuten.

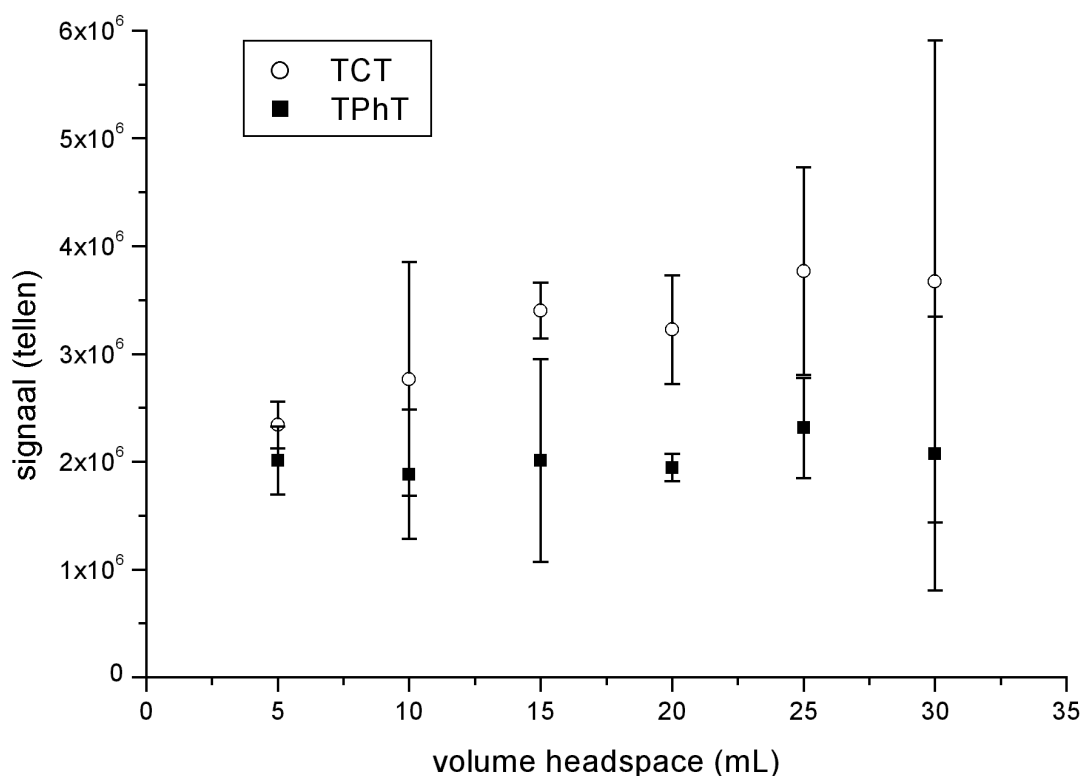


Figuur 6.7: Verhouding van TPhT-sigitaal op TCT-sigitaal (+ confidentie-interval) in functie van de extractietemperatuur voor 10 minuten headspace SPME.

1.3.5 Headspace volume

Uit vergelijking (2) volgt dat de geëxtraheerde hoeveelheid bij evenwicht groter zal zijn, naarmate het volume van de headspace kleiner is. Omdat de som van het volume van de waterige fase en het volume van de headspace vast lagen (= 45 mL = volume van de vial) gaat het verkleinen van de headspace steeds gepaard met een toename van de waterige fase en vice versa. Door het roeren van de oplossing zal het oppervlak van de waterige fase de vorm van een vortex aannemen. Het aanpassen van het volume van de headspace zorgt voor een wijziging van de vorm van de vortex waardoor het contactoppervlak tussen waterige fase en headspace veranderde. Hoewel dit oppervlak geen effect heeft op de thermodynamica, kan het wel de kinetiek van de extractie beïnvloeden, zodat ook voor deze parameters geen eenvoudig verband met de opbrengst verwacht wordt.

De resultaten van een experiment voor 10 minuten headspace SPME bij 75°C waarbij het volume van de headspace (en dus ook van de waterige fase) werden aangepast zijn weergegeven in figuur 6.8. Tijdens het experiment werd de totale hoeveelheid aan organotin constant gehouden ($C_0 \cdot V_s = \text{constant}$). Een gevolg van deze werkwijze was dat naarmate de headspace groter werd, het volume van de vloeibare fase afnam en de concentratie van het analiet in de oplossing toenam.



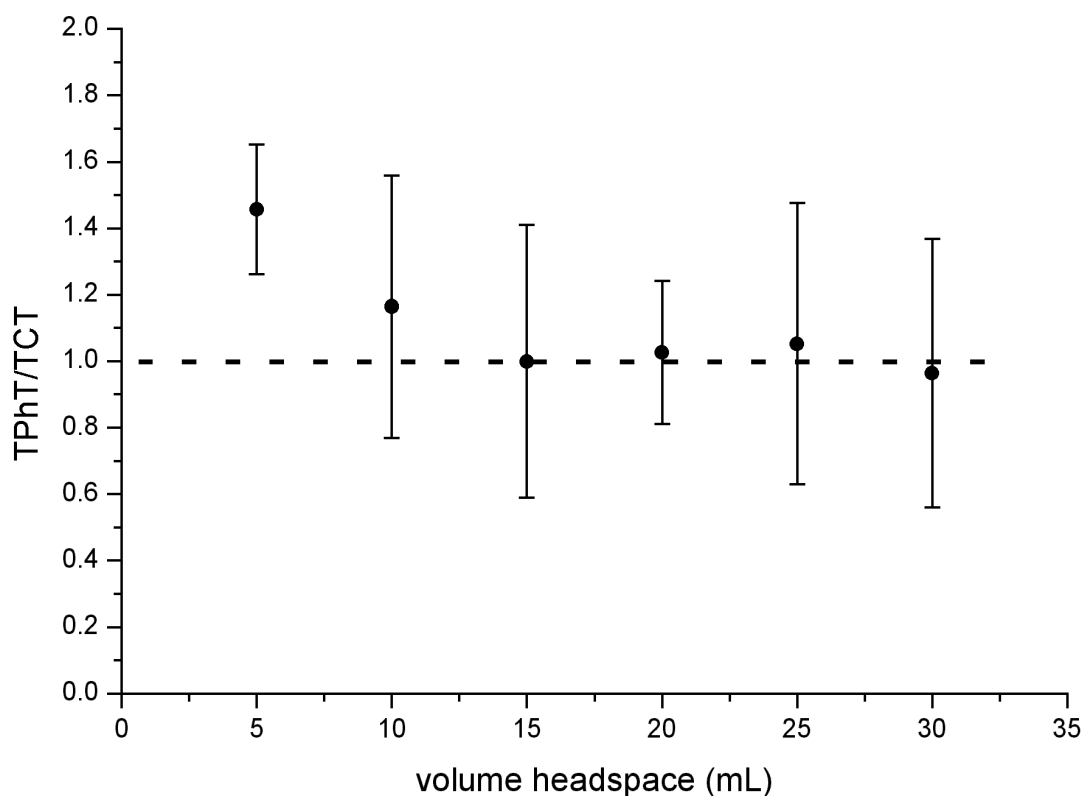
Figuur 6.8: Invloed van het volume headspace op headspace SPME van een constante hoeveelheid TPhT en TCT bij 75°C (foutenvlag = 95% confidentie-interval, $n = 3$).

Stel dat de kinetiek buiten beschouwing zou kunnen gelaten worden, dan kan men vergelijking (2) hanteren om de invloed van de wijziging in V_h en V_s te onderzoeken. Omdat tijdens het experiment $C_0 \cdot V_s$ constant werd gehouden, wijzigt enkel $(K_{hs} \cdot V_h + V_s)$ in de noemer van de vergelijking. Omdat ook $(V_h + V_s)$ constant was, zal $(K_{hs} \cdot V_h + V_s)$ toenemen voor $K_{hs} > 1$ en afnemen voor $K_{hs} < 1$ bij vergroten van V_h . De mate waarin dit de opbrengst beïnvloed zal ook afhangen van de grootte van $(K_{fs} \cdot V_f)$. Het constante gedrag van TPhT zou kunnen wijzen op een K_{hs} van ongeveer 1 maar kan ook veroorzaakt worden door een $(K_{fs} \cdot V_f)$ die groter is dan $(K_{hs} \cdot V_h + V_s)$ in die mate dat een effect van ' K_{hs} groter of kleiner dan 1' overschaduwd wordt. Voor TCT kon statistisch een stijgende trend worden aangetoond. Wanneer een rechte als model

werd gebruikt (lack-of-fit toets OK) bleek de richtingscoëfficiënt significant verschillend van nul te zijn. Hiermee is natuurlijk niet gezegd dat andere modellen geen betere beschrijving van de realiteit zouden geven, maar gezien de spreiding op de resultaten is het weinig zinvol om dit met deze dataset te onderzoeken. De waargenomen stijging kan wijzen op een K_{hs} kleiner dan 1 en een term ($K_{fs} \cdot V_f$) die niet veel groter (of zelfs kleiner) is dan ($K_{hs} \cdot V_h + V_s$).

Het gedrag uit figuur 6.8 kan echter ook veroorzaakt worden door kinetische aspecten waarvan niet eenvoudig te voorspellen is of het effect in dezelfde zin werkt als de thermodynamica. Op basis van observatie tijdens de extractie bleek dat de vortex een maximaal oppervlak had bij een headspace volume van 15 mL. Het valt bovendien ook niet uit te sluiten dat de vorm van de vortex een effect heeft op de diffusiesnelheden in de waterige fase (en misschien ook in de gasfase). Stel dat men enkel het contactoppervlak tussen waterige fase en gasfase beschouwt, dan verwacht men voor headspace volume 'groter of kleiner' dan 15 mL een minder snelle massatransfer van waterige fase naar de headspace. In welke mate dit een effect op de opbrengst zal hebben valt zeer moeilijk te voorspellen, zodat het relatief belang van de kinetiek ten opzichte van de thermodynamica ook zeer moeilijk in te schatten is.

De signaalverhouding TPhT/TCT in functie van het volume headspace is weergegeven in figuur 6.9. De data werden genormaliseerd ten opzichte van de waarde voor 15 mL headspace. Uit de figuur blijkt dat enkel voor kleine volumes headspace een afwijking optreedt. Het datapunt bij 5 mL headspace bleek significant verschillend te zijn van alle andere (ANOVA + LSD-toets met 5 mL als referentie). Tussen 15 en 30 mL headspace kon er geen trend waargenomen worden en blijkt de verhouding vrij constant te zijn. Aangezien het volume headspace een veel kleinere invloed had dan extractietijd of -temperatuur is het belang van deze parameter dus relatief klein. Voor praktische toepassingen werd er verder meestal 30 mL waterige fase, en dus 15 mL headspace, gebruikt.



Figuur 6.9: Genormaliseerde verhouding van TPhT-sigitaal op TCT-sigitaal in functie van het volume headspace voor 10 minuten headspace SPME bij 75°C van een constante hoeveelheid TPhT en TCT (foutenvlag = 95% confidentie-interval, $n = 3$).

1.3.6 Fibercoating

Het gebruik van SPME binnen de wereld van organometaalspeciatie bleef tot op heden vooral beperkt tot de 100 μm PDMS fiber. Om te controleren of dit terecht was, werden in een screening experiment drie andere soorten fibers getest. Alle fibers en hun karakteristieken zijn weergegeven in tabel 6.2. De tests werden uitgevoerd met commercieel beschikbare fibers (van de firma Supelco) waarvan de coating zich rond een fused silica staafje met diameter 0,11 mm bevond.

Tabel 6.2: De belangrijkste karakteristieken van de geteste fibers.

fiber	1	2	3	4
fase	PDMS	CW/DVB	PDMS/DVB	PDMS
filmdikte (μm)	100	65	65	7

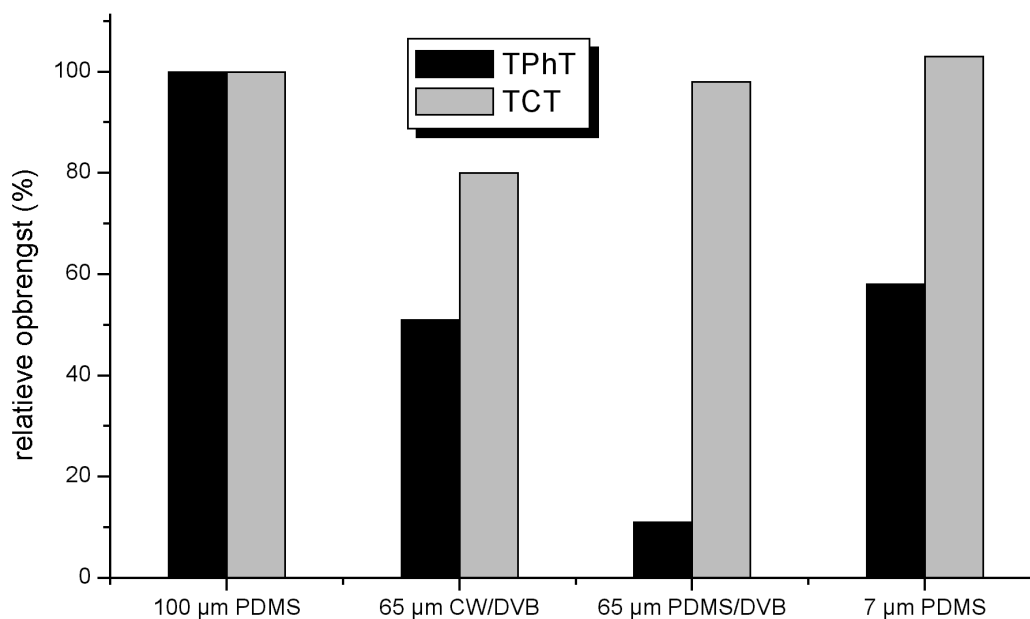
kleurcode	rood	oranje	blauw	wit
totale diameter (mm)	0,300	0,240	0,240	0,124
coating oppervlak (mm ²)	9,42	7,54	7,54	3,90
totaal volume (mm ³ = µL)	0,707	0,452	0,452	0,121
fasevolume (mm ³ = µL)	0,612	0,357	0,357	0,026

[Mani, 1999]

De experimenten werden op verschillende dagen uitgevoerd waarbij telkens de 100 µm PDMS-fiber vergeleken werd met een van de drie andere. Uit de literatuur blijkt dat men voor 100% PDMS een absorptieproces kan verwachten en voor PDMS/divinylbenzeen(DVB) en Carbowax(CW)/DVB een adsorptieproces. Divinylbenzeen is een vast poreus polymeer met een oppervlak van ongeveer 750 m²/g. De menging met PDMS gebeurt om het polymeer onder de vorm van een coating te kunnen aanbrengen op de fused silica fiber. Carbowax is een fase die in de gaschromatografie gebruikt wordt als middelmatig polaire fase. Het mengen van DVB met Carbowax zorgt voor een hogere polariteit van de fiber vergeleken met PDMS/DVB. Aangezien men een intrinsiek ander proces verwacht, valt het moeilijk te voorspellen hoe de opbrengst ten opzichte van een 100 µm PDMS fiber zal zijn. Voor de 7 µm PDMS fiber verwacht met een minder gunstige opbrengst bij evenwicht omwille van het 23 keer kleiner volume van de coating. De tijd die nodig is om evenwicht in de fiber te verkrijgen zal echter aanzienlijk kleiner zijn, zodat er mogelijk ook een invloed van gunstigere kinetiek kan zijn.

De resultaten van het experiment zijn voorgesteld in figuur 6.10. In de figuur werd het relatief signaal ten opzichte van de 100 µm PDMS fiber uitgezet. Het blijkt dat TPhT veel gevoeliger is aan een verandering van fiber dan TCT. Het kleine verschil tussen de 7 µm en de 100 µm PDMS fiber was, het verschil in fasevolume indachtig, opvallend. Dit kan mogelijk veroorzaakt worden door een zeer trage diffusie in de fiber waardoor enkel het buitenste deel van de coating effectief gebruikt wordt. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de extractie uit de headspace zeer snel en quasi volledig gebeurt, waardoor het volume van de coating niet zo'n grote rol speelt en de opbrengst vooral bepaald wordt door de transfersnelheid van waterige fase

naar gasfase. Het opstellen van extractieprofielen voor de verschillende fibers had waarschijnlijk tot meer informatie geleid in verband met het extractieproces. Omdat de experimentele gegevens gebaseerd zijn op een zeer klein aantal metingen is de onzekerheid vrij groot en kunnen de waargenomen trends in zekere mate door toeval beïnvloed zijn.



Figuur 6.10: Relatieve opbrengst van verschillende soorten fibers voor 10 minuten headspace extractie van TPhT en TCT bij 75°C.

Op basis van de experimentele data leek de extra informatie die uit dergelijke experimenten kon verwacht worden niet op te wegen tegen de tijd die er aan besteed zou moeten worden. Omdat de 100 µm PDMS fiber het beste resultaat gaf voor 'TPhT en TCT' bij de gebruikte extractietijd en temperatuur werd deze fiber verder gebruikt.

1.3.7 Stirring

1.3.7.1 Stirring vs. statisch

Het al dan niet roeren (stirring) van de waterige oplossing heeft een dubbel effect op de kinetiek. Enerzijds versnelt de diffusie in de oplossing en anderzijds vergroot het

contactoppervlak met de headspace door de vorming van een vortex. Het roeren van de oplossing gebeurde door toevoeging van een met teflon gecoate roervlo (lengte 2 cm) die iets korter was dan de diameter van de monstervial (i.d. 2,5 cm). De roermotor bevond zich onder het thermostatisch bad en bij het roeren werd steeds de maximale snelheid van de roermotor gebruikt. Er werd een experiment uitgevoerd waarbij extractie boven een statische en een geroerde oplossing werden vergeleken. Het gemiddelde signaal ($n=3$) was voor TPhT en voor TCT ongeveer 20, respectievelijk 30% lager wanneer er niet geroerd werd. Voor zowel TPhT als TCT wees een éézijdige t-test uit dat er een significant verschil was op het 95% confidentieniveau. In het verder werk werd de oplossing steeds geroerd.

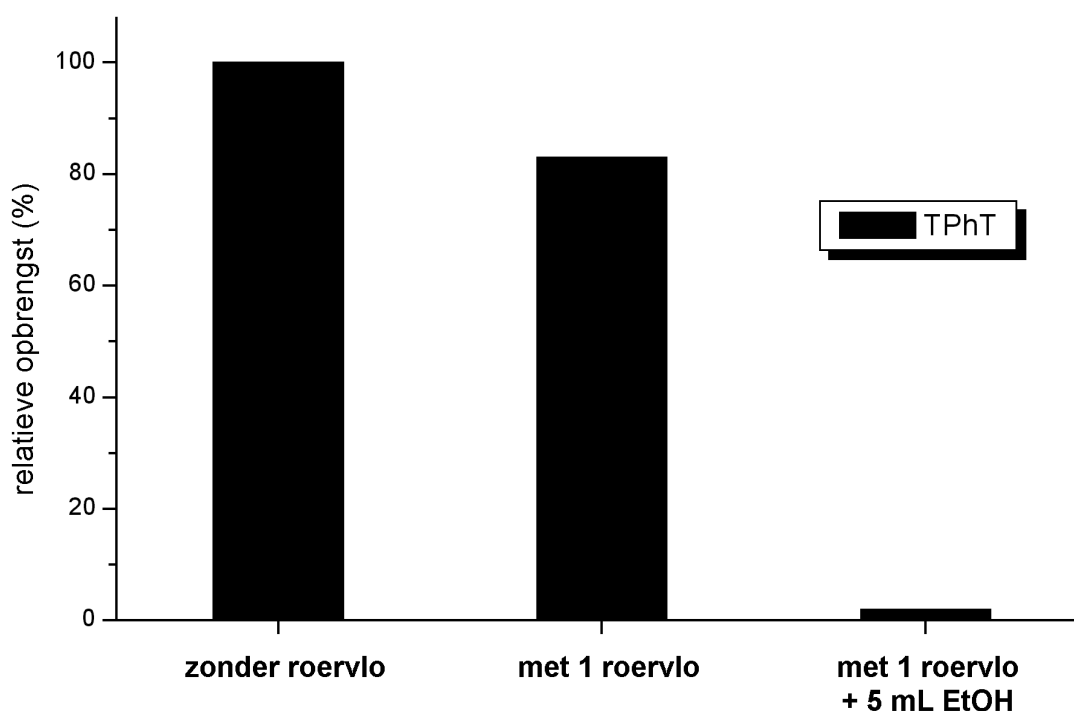
1.3.7.2 Adsorptie aan roervlo ?

Zoals eerder werd vermeld, zal de aanwezigheid van andere fasen de evenwichtsconcentratie in de fiber verlagen. Bovendien kan ook de kinetiek van het extractieproces beïnvloed worden door absorptie en desorptie aan een extra fase. Tot voor kort werd aangenomen dat deze effecten voor zuivere watermonsters verwaarloosbaar waren. Verschillende auteurs toonden echter aan dat adsorptie aan een teflon roervlo een substantiële verschuiving van de evenwichtsconcentratie in de fiber kan veroorzaken [Baltussen, 1999], [Shurmer, 2000]. Daarenboven bestaat er ook het vermoeden dat andere oppervlakken ook verbindingen kunnen vasthouden. De adsorptie bleek een groter effect te hebben naarmate de verbindingen meer apolair werden. Voor bepaalde PCBs werden er tot 10 keer meer verbinding teruggevonden op de roervlo dan in de SPME fiber. Het toevoegen van methanol of ethanol zou deze onderdrukking kunnen beperken. De publicaties van Baltussen et al. en van Shurmer et al. kwamen er als reactie op, en weerlegging van, een publicatie van Yang et al. [Yang, 1998]. Deze onderzoekers meenden voor hoogmoleculaire verbindingen op basis van verschillen tussen de verwachte opbrengst (berekend uitgaande van een gekende K_{ow}) en de lagere effectieve opbrengst te kunnen aantonen dat er voor deze verbindingen vooral adsorptie in plaats van absorptie plaatsvindt. Ironisch genoeg wezen ze er in diezelfde omstreden publicatie op dat voor elk experiment nieuwe roervlo's werden gebruikt omdat er voordien contaminatie door de roervlo's werd vastgesteld. De, achteraf gezien, logische link met hun afwijkende resultaten maakten ze zelf echter niet.

Omdat in dit werk ook gebruik werd gemaakt van Teflon roervlo's, werd een experiment opgezet om de invloed van een mogelijke adsorptie van TPhT aan de roervlo's na te gaan. Om het effect van het roeren uit te schakelen werd statische headspace SPME toegepast. Er werden drie reeksen monsters geanalyseerd:

1. zonder roervlo
2. met één roervlo
3. met één roervlo + 5 mL ethanol

De resultaten van het experiment zijn voorgesteld in figuur 6.11.

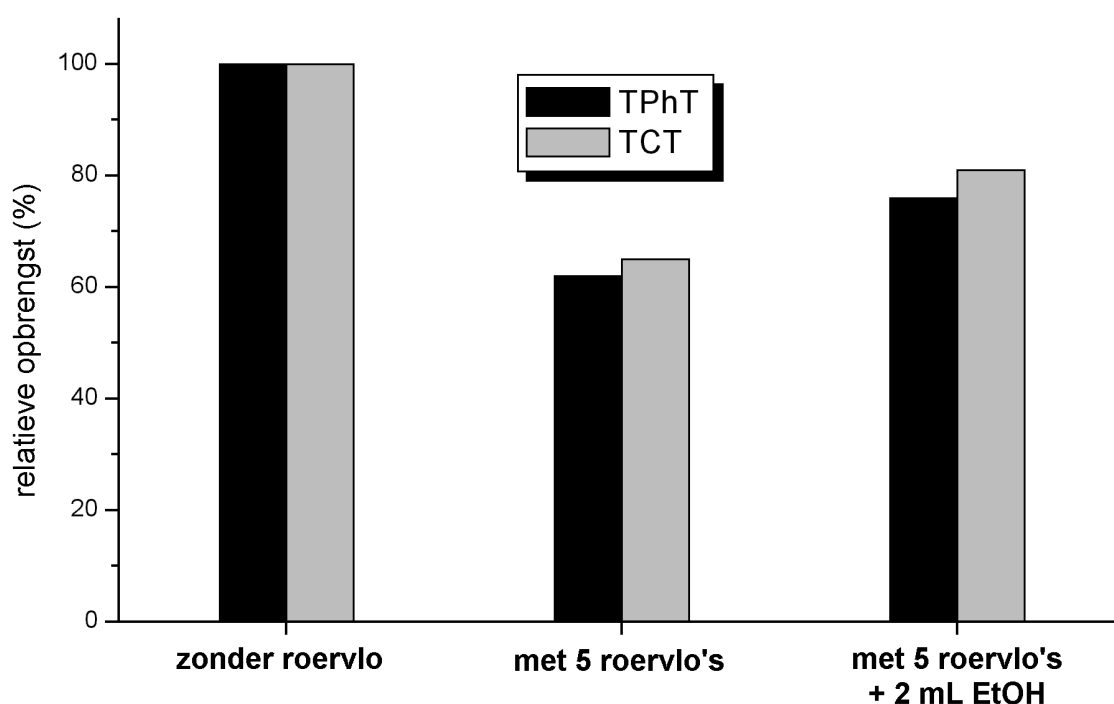


Figuur 6.11: Effect van dan aanwezigheid van een Teflon roervlo op de opbrengst van een statische headspace SPME extractie van TPhT (10 min, 75°C).

Uit het experiment bleek dat er een kleine daling was bij de aanwezigheid van één roervlo, het gemiddelde signaal was echter niet significant verschillend op het 95% confidentieniveau. Het zeer lage signaal bij het toevoegen van 5 mL ethanol werd hoogstwaarschijnlijk veroorzaakt door de condensatie van ethanol op de fiber - die kon trouwens visueel vastgesteld worden - waardoor het absorptieproces vermoedelijk sterk vertraagd werd. Om dit fenomeen te vermijden werd een nieuw

experiment uitgevoerd waarbij uitzonderlijk 'direct SPME' in plaats van headspace SPME werd toegepast. Om het effect van de roervlo's en van ethanol op een eventuele onderdrukking na te gaan, werden opnieuw drie reeksen monsters geanalyseerd:

4. zonder roervlo
5. met vijf roervlo's
6. met vijf roervlo + 2 mL ethanol



Figuur 6.12: Effect van de aanwezigheid van Teflon roervlo's op de opbrengst van een direct SPME extractie van TPhT en TCT.

Er werd besloten om vijf roervlo's toe te voegen om een eventueel aanwezig effect uit te vergroten. De resultaten van dit experiment zijn voorgesteld in figuur 6.12. De daling van het signaal is iets groter, maar niet echt drastisch (rekening houdend met het feit dat er vijf roervlo's gebruikt werden in plaats van één) en het toevoegen van ethanol lijkt de onderdrukking enigszins te reduceren. De resultaten werden jammer genoeg opnieuw gekarakteriseerd door een zeer grote spreiding zodat er ook aan dit deel van het experiment slechts beperkte conclusies kunnen worden geknoopt. Zowel voor TPhT als voor TCT konden met ANOVA geen significante verschillen worden vastgesteld op het 95% confidentieniveau.

De invloed op de verhouding TPhT/TCT van de drie verschillende methoden is voorgesteld in tabel 6.3. De opbrengst werd genormaliseerd ten opzichte van de verhouding voor een oplossing zonder roervlo's. Uit de tabel blijkt dat er geen significant verschil kan opgemerkt worden. Als er al een verschillend effect zou zijn tussen de drie methoden, dan is het effect op TPhT en TCT sterk gelijkaardig en blijkt TCT op dit vlak ook een goede inwendige standaard voor TPhT.

Op basis van alle bovenstaande resultaten werd verder onderzoek naar dit fenomeen niet als prioritair beschouwd voor het optimalisatieproces. De adsorptie aan de roervlo's was wel van groot belang binnen de contaminatieproblematiek. Nadat besloten werd om de roervlo's na elk gebruik overnacht in koningswater te plaatsen werd vastgesteld dat de procedureblanco voor TPhT verwaarloosbaar werd.

Tabel 6.3: Effect van roervlo en ethanol (2 mL) op de genormaliseerde signaalverhouding van TPhT op TCT voor 10 minuten direct SPME.

	Zonder stir bar	met 5 stir bars	met 5 stir bars + EtOH
TPhT/TCT	100	98	96
95% c.i.	24	20	22

1.3.8 Desorptie

Het overbrengen van de in de fiber geabsorbeerde verbindingen naar de kolom gebeurt door middel van thermische desorptie in een SPME-liner met een kleine inwendige diameter (0,75 mm). Het nauwere kanaal van deze liner zorgt er voor dat het draaggas sneller langs de fiber stroomt, wat een snellere afvoer van gedesorbeerde verbindingen veroorzaakt. Aangezien absorptie in de fiber een exotherm proces is, zal desorptie endotherm zijn en zal de desorptie sneller en verder doorgaan naarmate de temperatuur hoger is. Omdat de gedesorbeerde verbindingen constant afgevoerd worden kan men verwachten dat de desorptie kwantitatief zal zijn als ze maar lang genoeg doorgaat. Voor praktische toepassingen moet men echter de tijdwinst afwegen tegenover de (kleine) analietoverdracht. Omdat desorptie des te gunstiger verloopt naarmate de temperatuur stijgt, werd in dit

werk de maximale gebruikstemperatuur van de fiber gebruikt: 270°C. Voor de geoptimaliseerde extractieomstandigheden (75°C, 10 min) werd geen apart experiment uitgevoerd naar het effect van de desorptietijd. Een desorptietijd van één minuut bleek steeds voldoende om het overgrote deel (>95%) van de verbindingen te desorberen. Om te controleren of er alsnog een geheugeneffect was, werd regelmatig een tweede desorptie uitgevoerd nadat bijvoorbeeld een standaard met hoge concentratie was gemeten. Daaruit bleek dat het signaal afkomstig van analietoverdracht meestal minder dan 1000 tellen bedroeg en niet recht evenredig was met het bij de eerste desorptie geregistreerd aantal tellen. Zeer hoge signalen gaven wel een enigszins grotere analietoverdracht dan lagere, maar de relatieve bijdrage ten opzichte van het bronsignaal was meestal (veel) kleiner. Dit gegeven lijkt te wijzen in de richting van een sterke adsorptie op een zeer beperkt aantal plaatsen. Analietoverdracht bleek dan ook enkel een potentieel probleem te vormen bij de analyse van monsters met een zeer lage concentratie. Voor zover ons bekend werd er nog geen onderzoek uitgevoerd naar de eventuele concentratieafhankelijkheid van de analietoverdracht bij SPME.

Om er zeker van te zijn dat analietoverdracht geen foutieve resultaten veroorzaakte werd de fiber bij het begin van elke meetdag gedesorbeerd tot de overdracht verwaarloosbaar was (bijna steeds was één desorptie voldoende). Bij de analyse van reële monsters (met signalen dichtbij de LOD) werd er extra aandacht besteed aan het vermijden van analietoverdracht. In dergelijke gevallen werd de fiber meestal gedurende de volledige run in de injector gelaten. De kleine fractie die eventueel nog van de fiber zou komen na de start van het ovenprogramma, wordt dan grotendeels afgevoerd via de vent-valve die ondertussen is geopend.

1.3.9 Signaalonderdrukking

De aanwezigheid van organisch materiaal kan voor een aanzienlijke onderdrukking zorgen omdat de doelverbindingen door de extra fase kunnen geabsorbeerd of geadsorbeerd worden. Omdat de hoeveelheid organisch materiaal ook een rol kan spelen op de derivatisatiereactie met NaBEt_4 en dit effect niet eenvoudig van de signaalonderdrukking te scheiden is, zal dit onderdeel meer uitgebreid aan bod komen in het volgende hoofdstuk. Het volstaat hier aan te geven dat de

onderdrukking door organisch materiaal voor normale monsterhoeveelheden (0,1 tot 1 g organisch materiaal) en de geoptimaliseerde SPME condities (headspace, 75°C, 10 min) meestal tussen één en vier grootteorden bedraagt. Enkele waarden voor de onderdrukking van het TPhT-sigitaal, vergeleken met een zuivere waterige oplossing:

- 5 mL fruitsap: ongeveer 15 keer lager
- 0,5 g aardappelpoeder: ongeveer 1000 keer lager
- 0,1 g mosselpoeder: ongeveer 200 keer lager (signaal van TBut ongeveer 120 keer lager)

In alle bovenstaande gevallen werd 25 of 30 mL buffer toegevoegd om de pH voor de derivatisatie in te stellen. De onderdrukking voor TCT was quasi gelijk aan die voor TPhT wanneer de hoeveelheid organisch materiaal niet te groot was (zie volgend hoofdstuk). Voor monsters met een beperkte organische inhoud kan men dus hoogstwaarschijnlijk goede resultaten bekomen door middel van externe kalibratie met inwendige standaardisatie. Het toepassen van externe kalibratie zonder inwendige standaardisatie lijkt uit den boze. Indien men niet over een geschikte inwendige standaard beschikt, zal men zijn toevlucht moeten zoeken bij standaardadditie (waarbij verschil in monstergrootte en/of inhomogeniteit mogelijke voor problemen kunnen zorgen), matrix matching (met zelfde probleem als bij standaardadditie en ook moeilijk bij complexe monsters) of isotopendilutie.

1.4 Figures of merit

1.4.1 Gevoeligheid

Omdat het aantal tellen dat bij ICP-MS geregistreerd wordt, sterk afhankelijk is van de verdeling van de meettijd, wordt de gevoeligheid hier uitgedrukt onder optimale omstandigheden waarbij slechts één nuclide (^{120}Sn) geregistreerd werd. De minst subjectieve manier om de gevoeligheid uit de drukken is in 'het absoluut aantal tellen per hoeveelheid of per concentratie'. Vrijwel alle metingen met SPME werden uitgevoerd op de Elan 5000. De hierna vermelde waarden slaan dan ook enkel op dat toestel.

De gevoeligheid voor enkele organotinverbindingen werd berekend op basis van een meting die werd uitgevoerd onder de geoptimaliseerde omstandigheden. Voor TPhT en TCT bedroeg ze ongeveer 10^7 tellen per $\mu\text{g/L}$ ofwel $3 \cdot 10^8$ tellen per μg (telkens als massa 'Sn' en verwijzend naar de totale bemonsterde oplossing, ca. 35 mL).

Ter vergelijking werd (op een andere dag) de gevoeligheid ook berekend voor een 'klassieke' injectie van ($1 \mu\text{L}$) organotinverbinding. Voor TPhT bedroeg de gevoeligheid ongeveer 10^3 tellen per $\mu\text{g/L}$ ofwel 10^9 tellen per μg . Zoals verwacht is de absolute gevoeligheid in dezelfde grootteorde als bij headspace SPME. Jammer genoeg zijn er geen gegevens beschikbaar waarbij de twee technieken op dezelfde dag gebruikt werden, zodat er op basis van deze gegevens geen duidelijk beeld van de opbrengst van SPME kan gemaakt worden. Bovendien bestaat de mogelijkheid dat er een verschil in derivatisatieopbrengst is naargelang de daarna gebruikte extractietechniek (zie volgend hoofdstuk). Hierdoor zou het vergelijken van signalen afkomstig van de twee verschillende technieken tot foutieve conclusies kunnen leiden.

Vanzelfsprekend zijn de waarden voor de gevoeligheid niet constant en hangen ze sterk af van de staat van het toestel (cones, lenzen, detector,...) en kan er gemakkelijk tot een grootteorde verschil optreden. De gevoeligheid van het ICP-MS

instrument kan op verschillende manieren eenvoudig verhoogd worden, maar gaat daarbij in vele gevallen gepaard met een verhoogde achtergrond (en verhoogde spreiding op de achtergrond). Het verhogen van de gevoeligheid gebeurt daarom best door aanpassing van andere analyseparameters. Zoals reeds werd vermeld, kan de gevoeligheid voor headspace SPME van TPhT en TCT verhoogd worden door te werken bij een hogere temperatuur en/of langere extractietijd.

1.4.2 Detectielimiet

Voor de exacte manier van berekenen van de detectielimiet (LOD) wordt verwezen naar het vorige hoofdstuk. De hierna vermelde LOD's hebben betrekking op headspace SPME bij 75°C gedurende 10 minuten.

1.4.2.1 Instrumentele LOD

De instrumentele LOD (gebruik makend van de piekoppervlakte) werd berekend op basis van enkele chromatogrammen van standaardoplossingen. Voor TPhT bedroeg deze in een waterige oplossing:

$$\text{LOD}_a^{\text{instr}} = 30 \text{ pg/L (in oplossing)}$$

of

$$\text{LOD}_a^{\text{instr}} = 0,8 \text{ pg (absoluut)}$$

Indien men er van uitgaat dat 50% van de oplossing bestaat uit buffer, dan bedraagt de werkelijke instrumentele LOD 60 pg/L. Hoeveel buffer, en van welke concentratie, nodig is, zal echter ook afhankelijk zijn van de samenstelling van het watermonster. Omdat de instrumentele LOD evenredig is met de gevoeligheid, kan deze nog verlaagd worden door extractietijd en/of -temperatuur te verhogen.

Ter vergelijking werd ook de LOD berekend op basis van een 'klassieke' injectie van één µL van een organotinstandaard. Deze bedroeg 150 ng/L ofwel 150 fg absoluut. Deze LOD is van toepassing op de geïnjecteerde (iso-octaan) oplossing. In de

praktijk zal deze meestal bekomen worden na een vloeistof/vloeistof extractie van de oorspronkelijke waterige oplossing. Bij een dergelijke extractie zal er meestal een 10 tot 20-voudige preconcentratie plaatsvinden. De werkelijke instrumentele LOD bij LLE (liquid-liquid extraction) van TPhT bedraagt daarom ongeveer 10 ng/L.

1.4.2.2 Procedure LOD

Jammer genoeg is de instrumentele LOD enkel een maat voor het potentieel van de analytische techniek. In de praktijk zal deze theoretische waarde zelden gehaald worden omdat de gebruikte oplossingen en reagentia een bron van contaminatie kunnen zijn. De procedure LOD op basis van een standaardoplossing en 10 blanco's bedroeg:

$$\text{LOD}_a^{\text{proc}} = 120 \text{ pg/L (in oplossing)}$$

of

$$\text{LOD}_a^{\text{proc}} = 4 \text{ pg (absoluut)}$$

Ook hier kan opgemerkt worden dat voor de LOD in de oorspronkelijke oplossing meestal ongeveer dubbel zo groot zal zijn (240 pg/L).

Wanneer we deze concentraties vergelijken met de grens- en streefwaarden die in het eerste hoofdstuk aan bod kwamen, stelt men vast dat deze LOD ongeveer één grootteorde lager is dan de meeste waarden. Bepaalde streefwaarden (b.v. de 9 pg/l voor TPhT in zout water, Nederland) zullen ook met deze techniek niet haalbaar zijn. Of dergelijke streefwaarden realistisch zijn, is maar de vraag...

Voor zover ons bekend is de hier gerealiseerde combinatie van detectiekracht en eenvoudige monstervoorbereiding ongeëvenaard.

1.4.3 Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid wordt hier uitgedrukt als de relatieve standaardafwijking (in %) op 10 opeenvolgende metingen met dezelfde fiber van standaarden met gelijke concentratie. Zoals uit de optimalisatie-experimenten bleek, is de verhouding TPhT/TCT vaak veel constanter dan het oorspronkelijke TPhT-signaal. Het gebruik van TCT als inwendige standaard heeft daarom, zoals verwacht, ook een positieve invloed op de herhaalbaarheid.

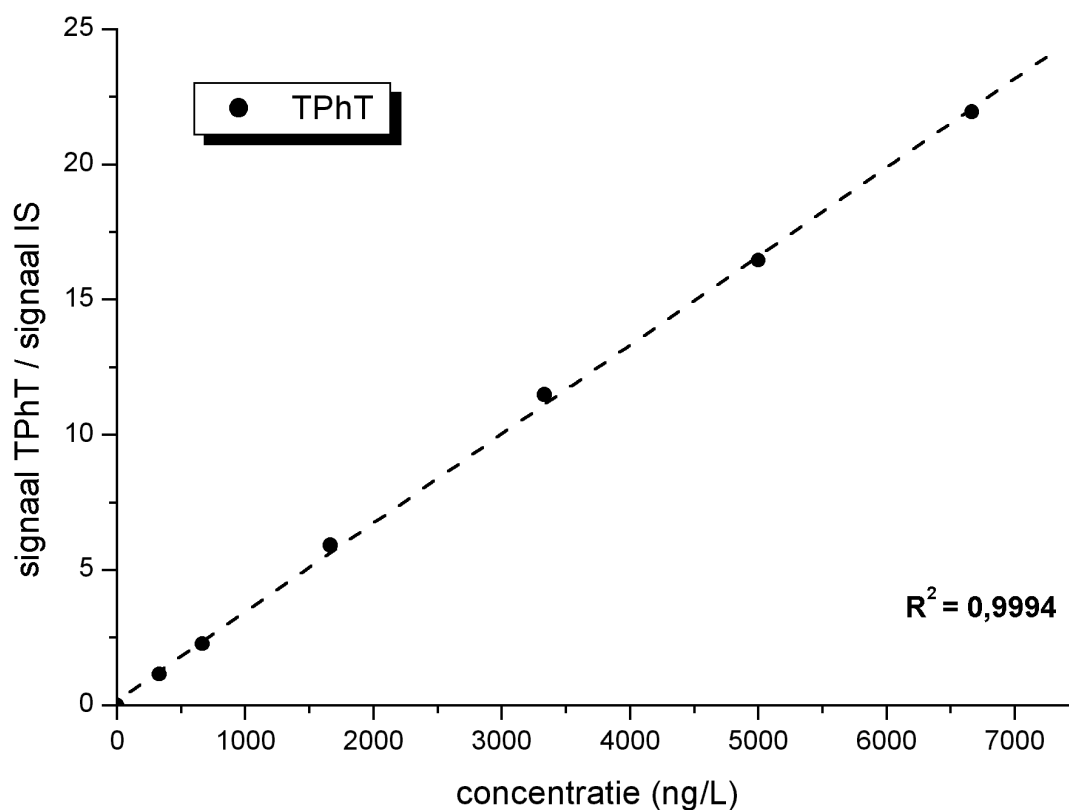
De relatieve standaardafwijking (RSD) voor 10 oplossingen met ongeveer 150 ng/L TPhT zonder correctie door TCT bedroeg 28%. Met gebruik van TCT was dit nog 10%. De grote spreiding op het TPhT-signaal was mogelijk voor een stuk te wijten aan de manier waarop de spikes - uit een stock die TPhT én TCT bevatte - aan de oplossingen werden toegevoegd (zie hoofdstuk 7). De gevonden spreiding werd vermoedelijk veroorzaakt door een verschil in concentratie tussen de gebruikte oplossingen. Na het aanpassen van deze procedure werd een betere herhaalbaarheid bekomen voor een vergelijkbaar experiment met 10 standaardoplossingen. Zonder gebruik van inwendige standaard bedroeg de RSD voor TPhT 11% (significant verschillend van 28%) en met inwendige standaard 8% (niet significant verschillend van 10%).

Deze waarden zijn berekend onder ideale omstandigheden. Bij reële monsters zullen de aanwezigheid van organisch materiaal, en de bijhorende onderdrukking (die niet altijd reproduceerbaar is), de lagere concentratie, de inhomogeniteit van het monster, enz. vaak tot een grotere spreiding leiden.

De fiber-tot-fiber herhaalbaarheid werd in dit werk niet gecontroleerd. Omdat er binnen een bepaald experiment nooit van fiber werd gewisseld, lijkt dit aspect hier ook van weinig belang te zijn.

1.4.4 Lineair dynamisch bereik

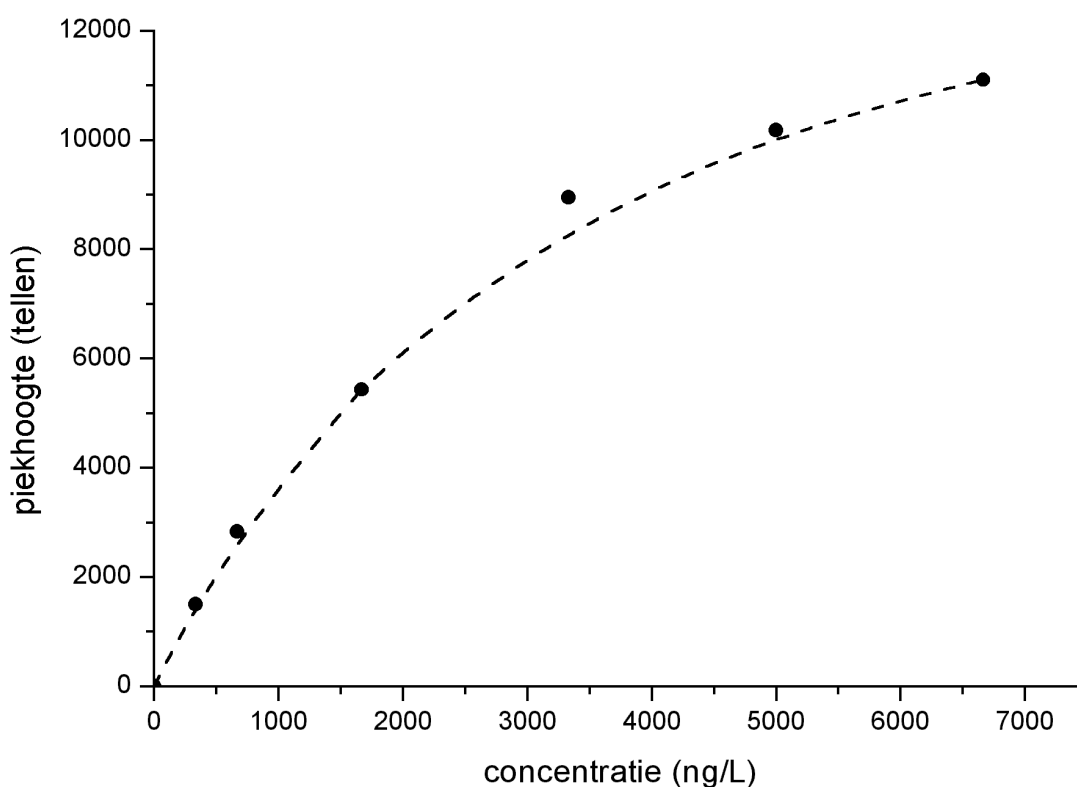
De hoge gevoeligheid van de techniek zorgt ervoor dat onder normale omstandigheden het werkingsgebied beperkt wordt door de detector van het ICP-MS instrument. De absolute bovengrens van de detector bedraagt ongeveer $3 \cdot 10^6$ tellen per seconde. In een eerste experiment werd de lineariteit gecontroleerd in een gebied vanaf 10 ng/L tot 1 µg/L. Bij de meting van 1 µg/L bleek een deel van de piek de bovengrens bereikt te hebben. Hoewel de meting in een dergelijk geval wel nog geregistreerd wordt, zijn de betrokken datapunten van beperkt nut aangezien de software ze invult met een aantal tellen dat overeenstemt met 3 000 000 cps.



Figuur 6.13: Kalibratiecurve voor TPhT bij headspace SPME (75°C, 10 min) met gebruik van de 'OmniRange' functie.

Door gebruik te maken van de 'OmniRange' functie kan de gevoeligheid kunstmatig verlaagd worden (voor de werking van deze functie wordt verwezen naar hoofdstuk 2). Een lagere gevoeligheid laat toe om na te gaan of andere factoren (SPME, GC)

ook effecten hebben op het lineair bereik. In een nieuw experiment werd de 'OmniRange' zodanig ingesteld dat gevoeligheid van de ICP-MS ongeveer twee grootteorden lager was (setting = 27). De concentratierange voor dit experiment strekte zich uit tot ongeveer 7 µg/L. Er werd eveneens een constante concentratie TCT als inwendige standaard toegevoegd. De kalibratiecurve is weergegeven in figuur 6.13. Uit de lineaire regressie analyse bleek dat een rechte een goed model vormde voor de dataset (lack-of-fit toets). Bij het gebruiken van een 2e orde fit bleek b_2 (de coëfficiënt van x^2) niet significant verschillend van nul te zijn. Ook zonder correctie door de inwendige standaard werd een analoog resultaat bekomen. De spreiding op de resultaten was echter iets groter. Op basis van deze resultaten kan men besluiten dat er hoogstwaarschijnlijk nog geen sprake is van verzadiging van de SPME fiber bij deze concentraties.



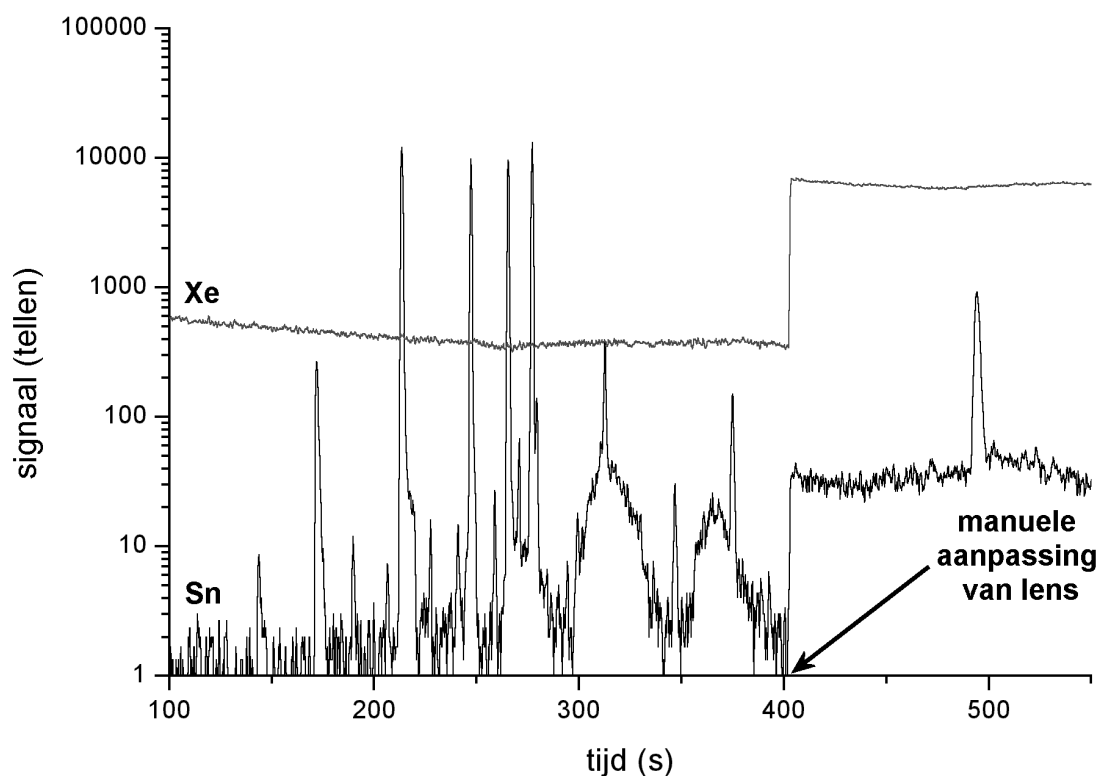
Figuur 6.14: Piekhoogte van TPhT in functie van zijn concentratie.

Uit de chromatogrammen bleek wel dat er bij hogere concentraties aanzienlijke piekverbreding optrad. Het 'uitzakken' van de piek zorgde ook voor een lagere piekhoogte. Deze eigenschap werd in functie van de concentratie uitgezet (figuur 6.14). In tegenstelling tot het eerste experiment, waar ook de piekhoogte een lineair

gedrag vertoonde, blijkt er bij de hogere concentraties uit het tweede experiment een aanzienlijke afwijking van het lineair gedrag. Dit is hoogstwaarschijnlijk te wijten aan het overladen van de chromatografische kolom. Deze afwijking zorgt echter niet voor analytische problemen. Enerzijds wordt er namelijk steeds op basis van de piekoppervlakte gewerkt en anderzijds zorgt het aangepaste ovenprogramma er voor dat TPhT en TCT voldoende van elkaar gescheiden zijn. Zelfs bij de hoogste concentratie was de scheiding tussen de twee verbindingen nagenoeg tot op de basislijn.

In sommige gevallen is het gebruik van de 'OmniRange' functie niet aangewezen omdat de gevoeligheid over het volledige chromatogram wordt verlaagd. Wanneer men enkel in een deel van het chromatogram problemen verwacht, is het aangewezen om een manuele variant van de 'OmniRange' toe te passen. In dergelijk geval wordt op een bepaald moment in het chromatogram een manuele aanpassing van een lensinstelling uitgevoerd. Een voorbeeld van een chromatogram dat op die manier werd geregistreerd is weergegeven in figuur 6.15. Het betreft hier een analyse van een mosselpoeder waarbij onder andere de butyltinverbindingen af en toe een detectorverzadiging veroorzaakten. Het gebruik van de gewone 'OmniRange' zorgde voor een onaanvaardbaar laag signaal van de TPhT-piek. In plaats van een tijdrovende zoektocht naar de optimale 'OmniRange' instelling voor het volledige chromatogram was het veel eenvoudiger om bij het begin de lenzen te desoptimaliseren en ze voor de elutie van TPhT terug op hun optimale waarde te zetten.

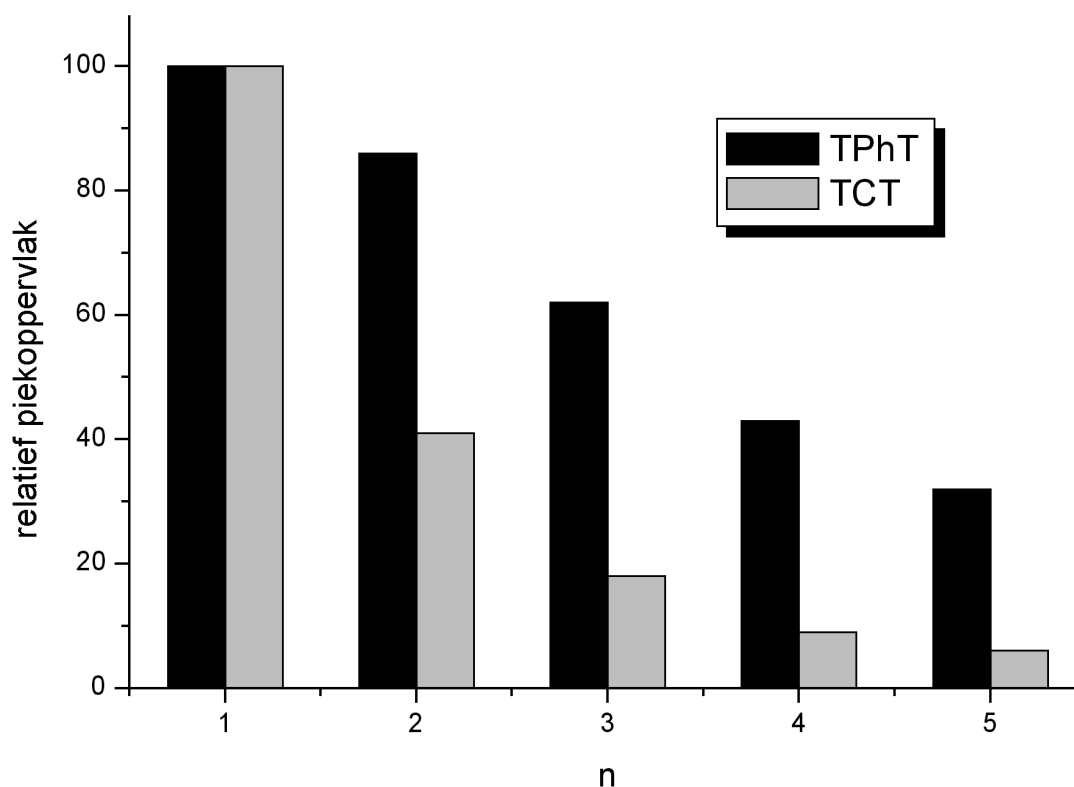
Naast deze kunstmatige aanpassingen kan het dynamisch gebied natuurlijk ook opgeschoven worden naar hogere concentraties door de extractieparameters aan te passen. In dit opzicht lijkt het best om de temperatuur te verlagen. Het verkorten van de extractietijd is iets minder aangewezen omdat men dan terecht komt in een steiler stuk van de extractiecurve.



Figuur 6.15: Toepassing van een manuele aanpassing van een lensinstelling tijdens een chromatogram om grote verschillen in concentratie binnen eenzelfde monster op te vangen.

1.4.5 Recovery

Met de term recovery wordt 'de fractie van de totale hoeveelheid, geëxtraheerd gedurende één extractie' bedoeld. Om deze parameter te berekenen, werd een experiment (in vijfvoud) uitgevoerd waarbij vijf opeenvolgende extracties uit dezelfde vial werden uitgevoerd. De verschillende opbrengsten voor TPhT en TCT zijn weergegeven in figuur 6.16. Er valt onmiddellijk op dat de afname voor TCT groter is dan voor TPhT, wat wijst op een lagere recovery voor deze laatste.



Figuur 6.16: Genormaliseerde opbrengst van 5 opeenvolgende extracties uit eenzelfde vial voor 10 minuten headspace SPME bij 75°C.

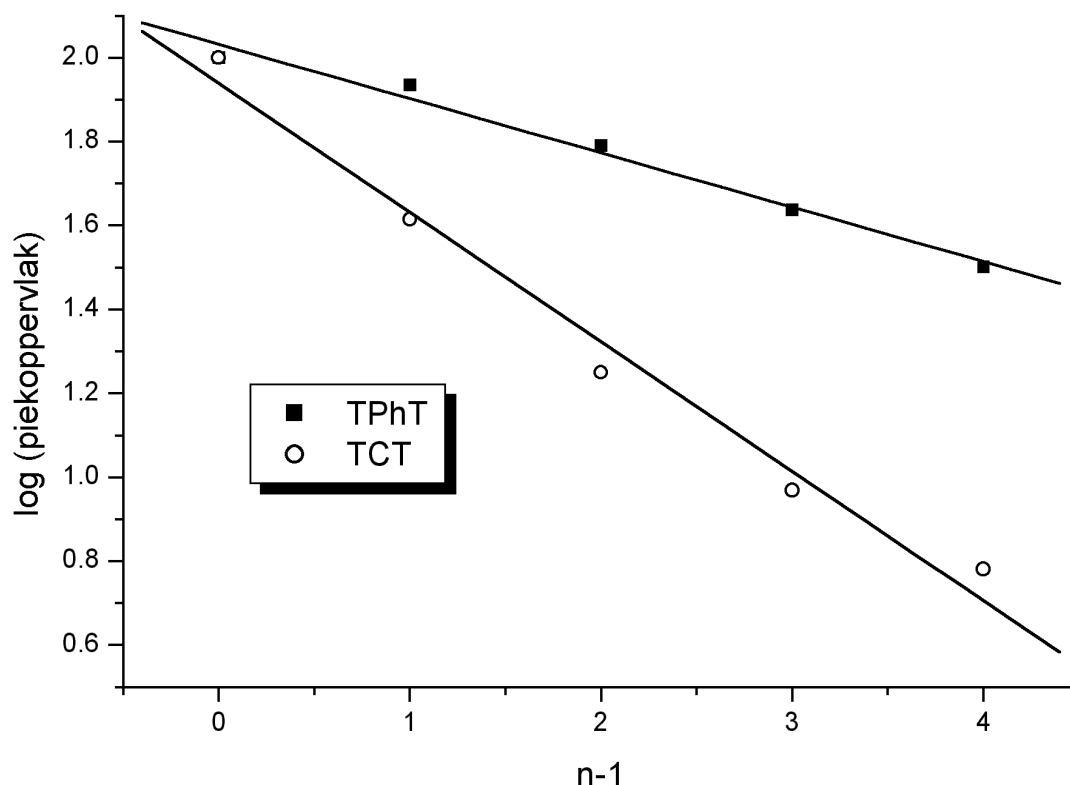
De opbrengst van één extractie kan in principe berekend worden uit de verschillen tussen de verschillende reeksen. Er geldt namelijk dat:

$$\frac{Q_{n+x}}{Q_n} = (1-R)^x$$

Waarbij Q (het signaal van) de geëxtraheerde hoeveelheid voorstelt, n 'de hoeveelste' extractie van hetzelfde monster aangeeft en x een natuurlijk getal is. Na omvormen van deze vergelijking, en gelijkstellen van x aan $(-n+1)$ bekomt men:

$$\log Q_n = (n-1) \cdot \log (1-R) + \log Q_1$$

Deze vergelijking, van de vorm $y = ax + b$, is de vergelijking van een rechte die bekomen wordt bij het uitzetten van $\log Q_n$ in functie van $(n-1)$. Het omvormen van de data uit figuur 6.16 resulteert dan in figuur 6.17.



Figuur 6.17: Uit de helling van de rechte $\log Q_n = \log (1-R) \cdot (n-1) + \log Q_1$ kan de recovery berekend worden.

Uit de helling a van de bekomen rechte kan men R berekenen op basis van:

$$R = (1 - 10^a) \times 100\%$$

Voor TPhT en voor TCT vindt men 26%, respectievelijk 50% recovery. In de figuur valt wel op dat er voor TCT een duidelijke kromming in de curve waarneembaar is, wat wijst op een recovery die niet constant is voor de opeenvolgende extracties. Uit lineaire regressie-analyse (lack-of-fit toets) bleek dat een rechte geen goed model vormde voor de dataset van TCT. Bij gebruik van een 2^e orde fit bleek b_2 (coëfficiënt bij x^2) significant verschillend van 0 te zijn (op het 95% confidentieniveau). Indien men R enkel zou berekenen op basis van de eerste twee punten, zou men een

hogere recovery vinden, indien enkel op basis van de laatste twee een lagere. In geval van TCT stelt men dus vast dat de recovery per stap kleiner wordt. Een dergelijke trend zou er op kunnen wijzen dat er in de loop van de reeks extracties meer TCT beschikbaar wordt. Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat naarmate er meer extracties uitgevoerd worden en de vial zich langer in de thermostatisch bad bevindt, er steeds meer TCT naar de headspace kan migreren. Hierdoor vinden de opeenvolgende extracties niet onder dezelfde omstandigheden (b.v. door een verschil in concentratiegradiënt) plaats en zal de recovery niet constant zijn. Dit effect kan enkel optreden wanneer de extractietijd korter is dan de evenwichtstijd, iets wat hier het geval is. Een tweede verklaring is dat het derivatisatieevenwicht in de loop van de metingen verschuift. Het wegnemen van een deel van de gederivatiseerde verbindingen kan het evenwicht in gunstige richting doen opschuiven (cfr. Le Châtelier). Een derde verklaring zou kunnen zijn dat de derivatisatie gewoonweg nog niet volledig was. Hoewel de derivatisatiereactie met NaBEt_4 vaak als kwantitatief beschouwd wordt, bestaan er twijfels over deze quasi algemeen aanvaarde veronderstelling. In het volgende hoofdstuk zal dieper op deze materie ingegaan worden.

Vreemd genoeg vindt men voor TPhT niet dezelfde trend. Er kan zelfs een tegenovergestelde, maar minder uitgesproken, trend waargenomen worden. Uit lineaire regressie-analyse (lack-of-fit toets) bleek niet dat een rechte een slecht model was voor de betrokken dataset, maar bleek wel dat voor een 2^e orde fit b_2 ook hier significant verschillend was van 0. Indien deze trend effectief aanwezig zou zijn, zou dit kunnen wijzen op een verlies van beschikbaar TPhT. Dit verlies zou bijvoorbeeld kunnen optreden door adsorptie aan de glaswanden of roervlo of door afbraak van nog niet gederivatiseerd TPhT bij de hoge werkingstemperatuur.

Van de meeste effecten zou men verwachten dat ze een invloed hebben op zowel TPhT als op TCT. Het verschil in gedrag zou echter verklaard kunnen worden door het simultaan optreden van verschillende fenomenen waarbij de twee verbindingen niet in dezelfde mate beïnvloed worden. Het totaal van de processen zou kunnen leiden tot een toename van beschikbaar TCT en een constant blijven (of lichte afname) voor TPhT.

Wanneer de recoveries die hier berekend werden, vergeleken worden met de eerder berekende percentages van de evenwichtsconcentraties na een extractietijd van 10 minuten (maximum 24% voor TPhT en 35% voor TCT), dan stelt men vast dat de hier berekende recovery-percentages hoger zijn. In eerste instantie zou men verwachten dat dit onmogelijk is omdat het bij de recovery om fracties van de totaal aanwezige hoeveelheid gaat die hoger zou moeten zijn dan de bij evenwicht geëxtraheerde hoeveelheid in de fiber. Deze paradoxale vondst kan onder meer verklaard worden door de hypothesen in verband met de derivatisatiereactie. Bovendien kunnen verschillende van de hierboven vermelde hypothesen ook een rol gespeeld hebben bij het experiment van de absorptiecurve. Zoals bij dit experiment ook werd vermeld, kan een onderschatting van de opbrengsten bij korte extractietijden leiden tot een onderschatting van de berekende percentages.

Tot slot kan er nog op gewezen worden dat het belang van de hier berekende recovery relatief beperkt is. Voor reële monsters zal signaalonderdrukking vaak een zeer grote invloed hebben op de recovery en zijn de voor zuiver water berekende recoveries quasi nutteloos.

1.5 Toepassing

1.5.1 Inwendige standaardisatie

Uit een deel van de eerder vermelde experimenten blijkt dat het gedrag van TCT niet altijd perfect analoog is aan dat van TPhT. Toch wordt er voor enkele belangrijke parameters een behoorlijke overeenkomst gevonden. Zolang een bepaald effect (positief of negatief) groter is dan het verschil in effect tussen TPhT en TCT heeft men er baat bij TCT als inwendige standaard te gebruiken. Bovendien is het bij ICP-MS aan te raden om met een inwendige standaard te werken om verschillen in gevoeligheid op te vangen. Voor relatief eenvoudige (zuivere) monsters kan men externe kalibratie toepassen met gebruik van TCT als inwendige standaard. Voor meer complexe monsters kan een verschil in gedrag tussen TCT en TPhT mogelijk tot foutieve resultaten leiden. In dergelijke geval zou men er goed aan doen om door

middel van een monster met gekende concentratie na te gaan of inwendige standaardisatie aangewezen is of niet.

1.5.2 Waterige monsters

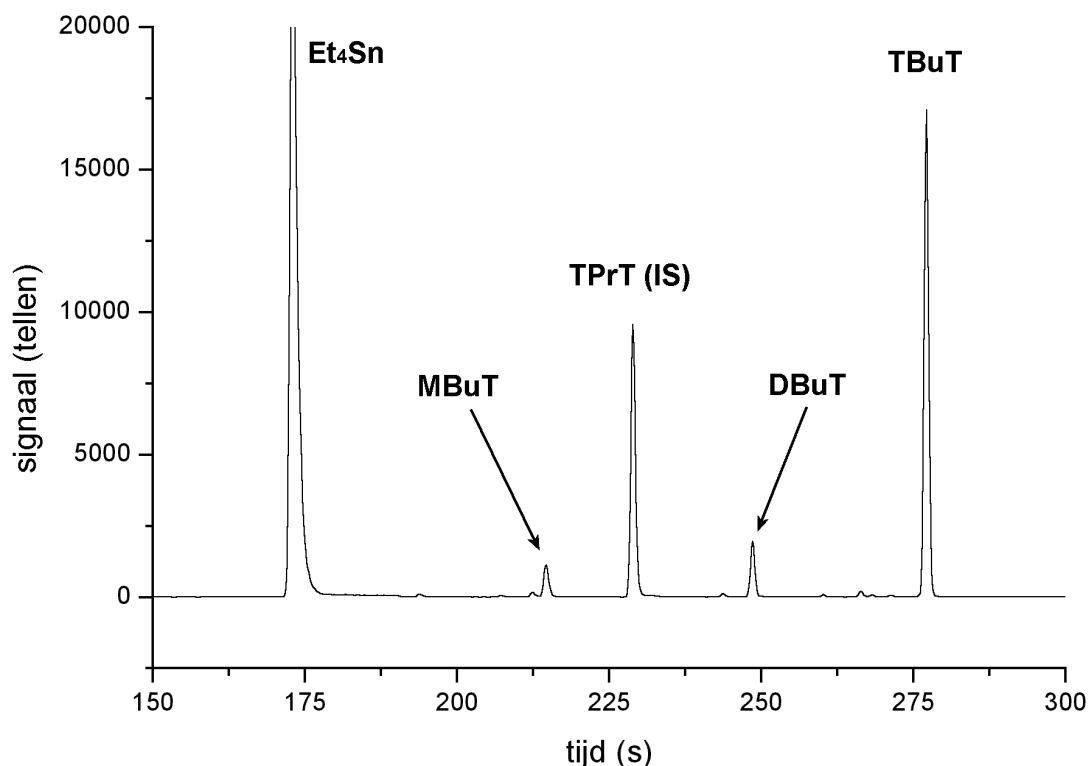
Omdat het TPhT-onderzoek vooral gericht was op vaste monsters, werden geen waterige monsters voor deze verbinding geanalyseerd. Enigszins buiten het kader van dit onderzoek werd wel TBuT bepaald in waterige oplossingen. Op vraag van enkele onderzoekers uit de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de Universiteit Gent werd deze stof in verschillende waterstalen bepaald. Deze waterstalen waren afkomstig van blootstellingsexperimenten op garnalen en bevatten naast TBuT ook nog voedingsstoffen voor de dieren. Omdat er twijfel bestond over de concentraties aan TBuT die tijdens het experiment gebruikt werden en de onderzoekers zelf niet over de technieken beschikten om TBuT tot op ppt-niveau te bepalen, werd ons gevraagd dit te doen. De stalen werden in dubbel aangebracht en voor elke oplossing werd één meting uitgevoerd zodat telkens twee waarden per soort monster bekomen werden. Er waren zes concentratiereeksen (inclusief de blootstellingsblanco), waarvan op twee tijdstippen een monster uit de blootstellingsbak werd genomen: één net na het bereiden van de oplossingen en één na twee dagen blootstelling. Alle oplossingen werden op dezelfde dag geanalyseerd.

Enkele karakteristieken van de analyse:

- headspace SPME bij kamertemperatuur gedurende 10 minuten
- externe kalibratie met inwendige standaardisatie
- 15 mL monsteroplossing + 15 mL buffer (pH 5)
- inwendige standaard: TPrT, 2 ng (als Sn)

Een typisch chromatogram van een monster is weergegeven in figuur 6.18. Naast de twee targetcomponenten TBuT en inwendige standaard TPrT konden ook nog andere verbindingen gedetecteerd worden. Zo kon telkens duidelijk een signaal van MBuT en van DBuT waargenomen worden. Daarnaast was er altijd een relatief groot signaal van Et₄Sn aanwezig dat vermoedelijk afkomstig is van de ethylatie van

anorganisch Sn uit het water. Deze component werd bij elke waterige analyse waargenomen maar het signaal was weinig reproduceerbaar. Het signaal van MBuT was vrij constant, wat een indicatie is dat het aanwezig was in het water (van monster of buffer) of in een van de reagentia. Het DBuT-sigitaal steeg naarmate het TBuT groter werd, wat aangeeft dat het vermoedelijk een afbraakproduct van het toegevoegde TBuT is.



Figuur 6.18: Chromatogram van een blootstellingsoplossing (reeks 2, dag 0, staal 1).

De resultaten voor TBuT zijn weergegeven in tabel 6.4. De getabelleerde waarden zijn weergegeven zonder blancocorrectie. Aan de analyseblanco's werden evenveel inwendige standaard, buffer en NaBEt₄ toegevoegd als aan de echte monsters, maar werd 15 mL Milli-Q water gebruikt in plaats van het monster. De blootstellingsmonsters maakten deel uit van het blootstellingsonderzoek (controleoplossingen) en waren identiek aan de andere reeksen (zelfde concentratie voedingsstoffen), op het toegevoegd TBuT na.

Tabel 6.4: Resultaten van de analyse van de verschillende blootstellingsoplossingen.

concentratiereeks	dag	Staal 1 concentratie TBuT (ng/L, als Sn)	Staal 2 concentratie TBuT (ng/L, als Sn)
analyseblanco	/	0,25	/
analyseblanco	/	0,24	/
analyseblanco	/	0,27	/
blootstellingsblanco	0	2,12	2,08
blootstellingsblanco	2	3,85	4,68
1	0	*>>	*>>
1	2	5,36	4,41
2	0	335	438
2	2	4,51	4,60
3	0	709	670
3	2	18,8	19,3
4	0	533	517
4	2	115	119
5	0	2940	3290
5	2	924	994

*: Omdat de signalen veel hoger waren dan verwacht (>> 100 ng/L), werden ze afgesneden (limiet van de detector) waardoor ze onbruikbaar waren. Na deze metingen werden de lensinstellingen aangepast om te voorkomen dat hetzelfde probleem zou optreden bij de andere reeksen.

Uit de resultaten blijkt dat:

- de bijdrage van de analyseblanco klein is vergeleken met de blootstellingsblanco
- de verschillen tussen twee stalen van dezelfde reeks en dag klein zijn en binnen de verwachte grenzen liggen
- er een aanzienlijke daling optreedt na twee dagen blootstelling

- de concentraties na twee dagen voor concentratiereeksen 1 en 2 nauwelijks verschillen van de blootstellingsblanco's.

De relatief grote daling na twee dagen van de concentratie bij de blootstellingsreeksen met toegevoegd TBut kan mogelijk veroorzaakt zijn door adsorptie van TBut aan de plastic wanden van de blootstellingsbakken of door bioaccumulatie in de garnalen zelf. Omdat het experiment zelf weinig relevante gegevens opleverde en geen duidelijke trend vertoonde, zal er waarschijnlijk een nieuwe poging ondernomen worden waarbij mogelijk ook de organismen zelf zullen geanalyseerd worden. In eerste instantie zullen echter de standaardoplossingen die door de onderzoekers werden gebruikt, moeten gecontroleerd worden.

1.5.3 Vaste monsters

Voor de bepaling van TPhT in vaste monsters wordt er verwezen naar hoofdstuk 7.

1.6 Referenties hoofdstuk 6

•	Ai, 1998	Ai J, ANAL CHEM, 1998 , 70, 4822-4826
•	Arthur, 1990	Arthur CL en Pawliszyn J, ANAL CHEM, 1990 , 62, 2145-2148
•	Arthur, 1992	Arthur CL, Potter DW, Buchholz KD, Motlagh S en Pawliszyn J, LC.GC, 1992 , 10, 656-661
•	Baltussen, 1999	Baltussen E, Sandra P, David F, Janssen H-G en Cramers C, ANAL CHEM, 1999 , 71, 5213-5216
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, doctoraatsproefschrift, 1998 , Universiteit Gent
•	Gorecki, 1999	Gorecki T in <i>Applications of Solid Phase Microextraction</i> (ed. Pawliszyn J), 1999 , RSC, Cambridge, UK, p 92-108
•	Llompart, 1998	Llompart M, Li K en Fingas M, ANAL CHEM, 1998 , 70, 2510-2515
•	Mani, 1999	Mani V in <i>Applications of Solid Phase Microextraction</i> (ed. Pawliszyn J), 1999 , RSC, Cambridge, UK, p 57-72
•	Pawliszyn, 1997	Pawliszyn J (ed.), <i>Solid Phase Microextraction, Theory and Practise</i> , 1997 , Wiley-VCH, Inc., New York, USA
•	Shurmer, 2000	Shurmer B en Pawliszyn J, ANAL CHEM, 2000 , 72, 3660-3664
•	Yang, 1994	Yang X en Peppard T, J AGRIC FOOD CHEM, 1994 , 42, 1925-1930
•	Yang, 1998	Yang Y, Hawthorne SB, Miller DJ, Liu Y en Lee ML, ANAL CHEM, 1998 , 70, 1866-1869

Hoofdstuk



MONSTERVoorBEREIDING

I think animal testing is a terrible idea; they get all nervous and give the wrong answers ...
(anonymus)

1.1 Inleiding

In dit hoofdstuk komen de verschillende aspecten van de monstervoorbereiding bij de bepaling van organotinverbindingen aan bod. Net als in het vorige hoofdstuk werden de meeste parameters onderzocht en geoptimaliseerd voor de bepaling van TPhT en TCT.

Het eerste deel van het hoofdstuk bestaat uit een korte toelichting over de aanmaak en stabiliteit van de standaardoplossingen en over het belang van een grondige reinigingsprocedure van de gebruikte materialen.

In het tweede deel van het hoofdstuk wordt de derivatisatie van de organotinverbindingen besproken. De invloed van de pH en van de karakteristieken van de derivatisatieoplossing komen aan bod. Op het einde van dit deel wordt de vaak aangenomen veronderstelling dat derivatisatie met NaBEt_4 vrijwel steeds kwantitatief is, in vraag gesteld. Daarbij wordt beroep gedaan op eigen experimentele data en op gegevens uit de literatuur.

Het derde en laatste deel van het hoofdstuk handelt over de digestie van vaste monsters. De digestie van organisch materiaal is een cruciale stap voor de accurate kwantificatie van organotinverbindingen in tal van 'echte' monsters. Naast het gebruik van een digestiemethode uit de literatuur, wordt ook een nieuwe aanpak voorgesteld. De nieuwe methode maakt gebruik van het alkalisch karakter van de NaBEt_4 -oplossing en werd, voor zover ons bekend, nog nooit eerder toegepast. In plaats van twee aparte reactiestappen te gebruiken worden digestie en derivatisatie in een en dezelfde stap uitgevoerd. Hoewel de methode getypeerd wordt door een lagere gevoeligheid, wordt ze gekenmerkt door een minder omslachtige monstervoorbereiding. De nieuwe analysemethode werd gevalideerd door de analyse van een gecertificeerd referentiemateriaal (mussel tissue, BCR CRM 477). Als toepassing werd TPhT in verschillende soorten monsters (aardappelen, mosselen, vis) bepaald.

1.2 Praktische aspecten

1.2.1 Aanmaak van standaardoplossingen

Tijdens het onderzoek werd gebruik gemaakt van drie verschillende standaardoplossingen met elk een verschillend concentratieniveau:

- Stock 1: Monocomponentstandaard met de hoogste concentratie (0,1 tot 1 g/L als Sn), werd slechts één tot twee maal per jaar aangemaakt door de zuivere producten op te lossen in EtOH.
- Stock 2: Monocomponentstandaard met een middelbare concentratie (1 tot 10 mg/L als Sn), werd om de paar maanden bereid door verdunnen van Stock 1 met EtOH.
- Werkstock: Multicomponentstandaard met relatief lage concentratie (100 µg/L als Sn) die maandelijks bereid werd door mengen van meerdere Stock 2-standaarden en aanlengen met EtOH.

Alle oplossingen werden in het donker bij 4°C bewaard. EtOH werd als oplosmiddel gebruikt omdat de meeste organotinverbindingen bij de gebruikte concentraties onvoldoende oplosbaar en minder stabiel zijn in water. Er werd, zoals gebruikelijk voor organische verbindingen, steeds gebruik gemaakt van glazen recipiënten om verlies door adsorptie aan de wand te vermijden.

Om een zekere flexibiliteit te behouden voor het samenstellen van een multicomponentstandaard, werden de verbindingen pas in de laatste verdunningsstap samengevoegd. Bovendien is bekend dat organotinverbindingen bij hoge concentraties uitwisseling van zijketens kunnen vertonen [Crnoja, 2001].

De standaardoplossingen die gebruikt werden tijdens de SPME-experimenten werden bereid door 50 µL van de werkstock toe te voegen aan 30 mL

bufferoplossing. Het pipetteren van kleine hoeveelheden ethanol is niet evident. Omdat ethanol een grotere affiniteit vertoont voor de wand van de pipetpunt dan water treedt er een tragere navloeiing van de oplossing op. Dit effect kan tot het onvolledig overbrengen van de werkstandaard leiden en zou voor systematische fouten en een verminderde reproduceerbaarheid kunnen zorgen (zie hoofdstuk 6). Om er zeker van te zijn dat alle oplossing uit de pipet in de buffer terecht kwam werd de pipetpunt na het pipetteren enkele malen gespoeld (opzuigen, uitduwen, opzuigen, enz.) met de betrokken bufferoplossing. Na controle door middel van weging bleek dat dit een zeer gunstig effect op de juistheid en herhaalbaarheid (RSD van ongeveer 1%) had.

Voor het bereiden van standaardoplossingen in iso-octaan werd 1 mL werkstock eerst toegevoegd aan een 30-tal mL bufferoplossing. Aan die oplossing werd 500 μL NaBEt_4 (1% in water) toegevoegd en 1 mL iso-octaan om de gederivatiseerde verbindingen te extraheren. Op deze manier werd een oplossing met dezelfde concentratie als in de werkstock bekomen. Dergelijke oplossingen werden gebruikt voor de optimalisatie van het ovenprogramma en voor het uitvoeren van bepalingen na een klassieke vloeistof-vloeistof extractie.

1.2.2 Reinigingsprocedure

Het gebruikte glaswerk werd steeds gereinigd door het eerst tweemaal uit te koken (gedurende een vijftal uur) in een oplossing met 1,2 M HCl en 1,4 M HNO_3 en het vervolgens grondig te spoelen met MQ-water.

Zoals in vorig hoofdstuk al werd aangehaald, kan adsorptie van analietverbindingen aan de Teflon roervlo voor ongewenste carry-over effecten zorgen. De roervlo's overnacht onderdompelen in aqua regia bleek een zeer doeltreffende methode om dit effect uit te schakelen.

1.3 Derivatisatie met NaBEt₄

1.3.1 Historiek

Omdat de belangrijkste organometaalverbindingen vaak onvoldoende vluchtig en apolair zijn, dienen ze gederiviseerd te worden om een goede scheiding met GC mogelijk te maken. De drie belangrijkste derivatisatiemethoden zijn [Morabito,2000]:

1. hydridegeneratie met NaBH₄
2. alkylatie met Grignard reagens (b.v. RMgCl)
3. alkylatie met tetraalkylboraat (b.v. NaBEt₄)

Hoewel hydridegeneratie in het verleden soms met succes werd toegepast, blijkt de toepassing ervan op reële monsters vaak problematisch. Tal van matrixcomponenten kunnen de derivatisatie nadelig beïnvloeden en het optreden van schuimvorming geeft aanleiding tot een slechtere reproduceerbaarheid. Ondanks het feit dat de matrixeffecten (deels) onderdrukt kunnen worden door toevoegen van extra reagentia, wordt hydridegeneratie minder en minder toegepast als derivatisatiemethode voor organotinverbindingen. De gevormde derivaten zijn bovendien minder stabiel dan de overeenkomstige alkylderivaten, waardoor een off-line procedure af te raden is. De reactie blijkt ook niet bruikbaar voor fenyntinverbindingen [Gomez-Ariza, 2001].

Tot voor kort was alkylatie met een Grignard reagens de meest gebruikte methode om organotinverbindingen te derivatiseren. Deze quasi ogenblikkelijke reactie, die dient uitgevoerd te worden in een organisch solvent, wordt gekenmerkt door een hoge opbrengst en stabiele eindproducten. Het werken in organisch milieu, de noodzaak tot een terugextractie na de derivatisatie en een clean-up stap verhogen echter de kans op contaminatie, afbraak of verlies. Daarnaast brengt de reactiviteit van het reagens ook bepaalde risico's met zich mee.

De alkylatie door middel van natriumtetraalkylboraat is de laatste jaren uitgegroeid tot de populairste methode voor organotinderivatisatie. Midden jaren '80 werd NaBEt_4 voor het eerst toegepast op organometaalverbindingen, meerbepaald op methyllood [Rapsomanikis, 1986]. Enkele jaren later volgde de eerste toepassing bij de speciatie van organotinverbindingen [Ashby, 1989]. Het grote voordeel van deze methode is dat het reagens, in vergelijking met een Grignard reagens, relatief stabiel is in waterig milieu. Hierdoor kan de derivatisatie vaak *in situ* gebeuren waardoor de kans op contaminatie en verliezen kleiner is. Een fundamenteel nadeel van deze methode is dat er door de ethylatie geen onderscheid meer tussen de verschillende ethylderivaten kan gemaakt worden. Vooral voor de groep van organoloodverbindingen, waarbinnen de verschillende ethylverbindingen een belangrijke rol spelen, kan dit nadelig zijn. Vrij recent werd er echter een antwoord op dit probleem gebracht door de ontwikkeling van natriumtetrapropylboraat [De Smaele, 1998]. Ondanks het feit dat dit reagens vergelijkbare eigenschappen heeft, is het gebruik ervan tot op heden vrij beperkt gebleven. Een gegeven dat hoogstwaarschijnlijk te wijten is aan de moeilijke verkrijgbaarheid van het product.

Hoewel het aantal publicaties waarbij gebruik wordt gemaakt van NaBEt_4 aanzienlijk is, grijpen onderzoekers qua reactieomstandigheden veelal terug naar dezelfde publicaties. Zo wordt er, voor verschillende soorten organometaalverbindingen, zeer vaak gewerkt bij een pH van 4,1. Deze waarde 'dateert' van het allereerste onderzoek van Rapsomanikis waarbij een vereenvoudigd Simplex algoritme werd gebruikt om de derivatisatie van methyllood te optimaliseren [Rapsomanikis, 1986]. Martin en Donard, wiens werk ook vaak als bron voor de gebruikte derivatisatieomstandigheden geciteerd wordt, vinden een ander pH-optimum voor monomethyltin en diëthyltin (pH 4) dan voor dibutyltin (pH 5). Jammer genoeg werden in hun experimenten slechts drie pH-waarden gebruikt (3, 4 en 5). Uit ander werk blijkt meermaals dat vele parameters een invloed vertonen die afhankelijk is van de beschouwde verbinding [De Smaele, 1998], [Ceulemans, 1993]. Tot op heden is het belang van de verschillende parameters bij de derivatisatiereactie nog steeds niet 100% duidelijk. Daarenboven kan men ook niet uitsluiten dat de manier van extractie (al dan niet in een overmaat solvent) een invloed kan hebben op de opbrengst [Crnoja, 2001]. Als men dan ook nog in acht neemt dat fenyyltinverbindingen veel minder onderzocht werden dan de butyltinverbindingen,

dan lijkt het aangewezen om voor TPhT een aparte optimalisatie van de derivatisatie uit te voeren.

Een samenvatting van de eigenschappen van de drie derivatisatieprocedures is voorgesteld in tabel 7.1.

Tabel 7.1: Vergelijking van hydridegeneratie, Grignard alkylatie en alkylboraat alkylatie voor de derivatisatie van organometaalverbindingen.

	NaBH ₄	RMgCl(Br)	NaBEt ₄
Opbrengst	+	++	+
Tijdconsumptie	+	-	+
Stabiliteit eindproduct	-	+	+
Robuustheid	-	++	+/-
Milieu	waterig	organisch	waterig

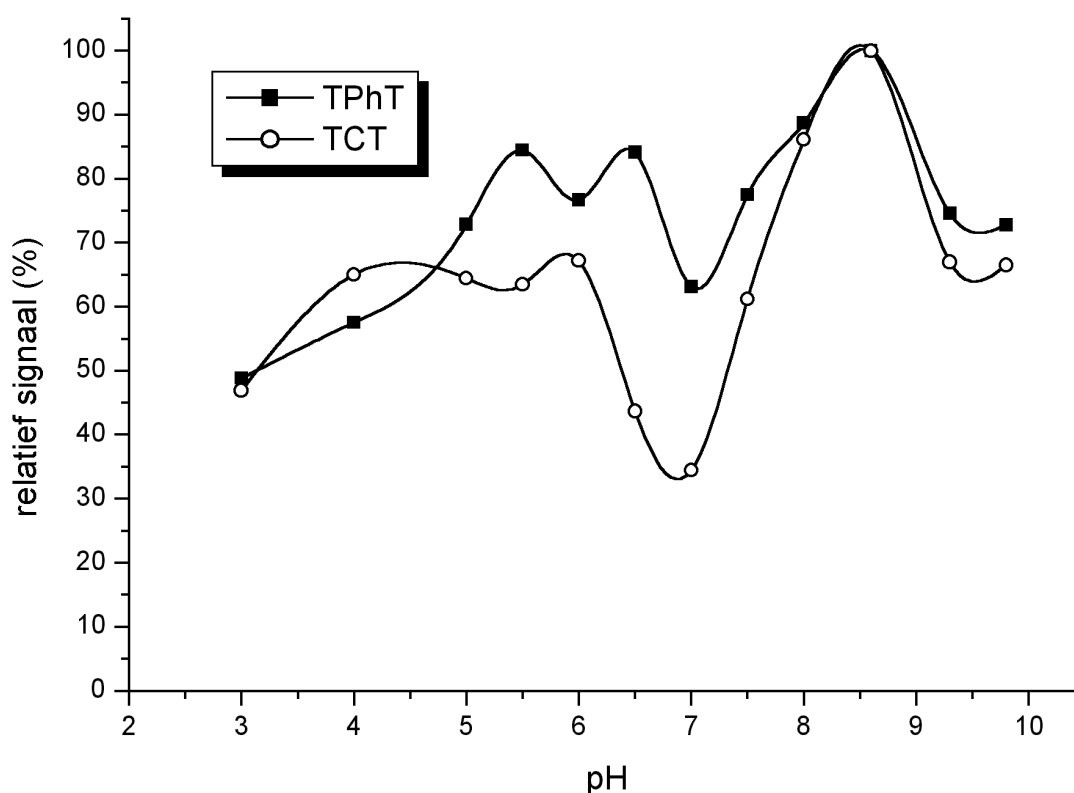
1.3.2 pH

Het is algemeen bekend dat de efficiëntie van ethylatie met NaBEt₄ sterk afhankelijk is van de pH [Schubert, 2000, A]. Tijdens dit onderzoek was het de bedoeling om het effect van de pH na te gaan voor de derivatisatie van TPhT en TCT wanneer er gebruik werd gemaakt van SPME. Voor zover ons bekend, werd de invloed van de pH op de ethylatiereactie van TPhT in combinatie met SPME en bij verhoogde temperatuur nog nooit eerder onderzocht.

In de loop van het onderzoek werden meerdere experimenten uitgevoerd om de optimale pH te zoeken voor bij de bepaling van TPhT en TCT. Twee ervan zijn voorgesteld in figuur 7.1 en figuur 7.2. In vele studies beperkt men zich tot pH-waarden in de buurt van de in de literatuur verschenen maxima (pH 4 tot 5). In dit werk werden pH-waarden tussen 1 en 11 onderzocht.

Hoewel de verkregen 'signaal vs. pH' curves nooit voor 100% gelijk waren, en de verschillen binnen één experiment niet altijd significant waren, werden wel bijna steeds dezelfde trends voor TPhT en TCT waargenomen:

- een eerste maximum bij pH 4 ~ 4,5 ~ 5
- een sterke afname beneden pH 3
- een minimum rond pH 6 ~ 6,5 ~ 7
- het hoogste maximum bij pH 8 ~ 8,5 ~ 9

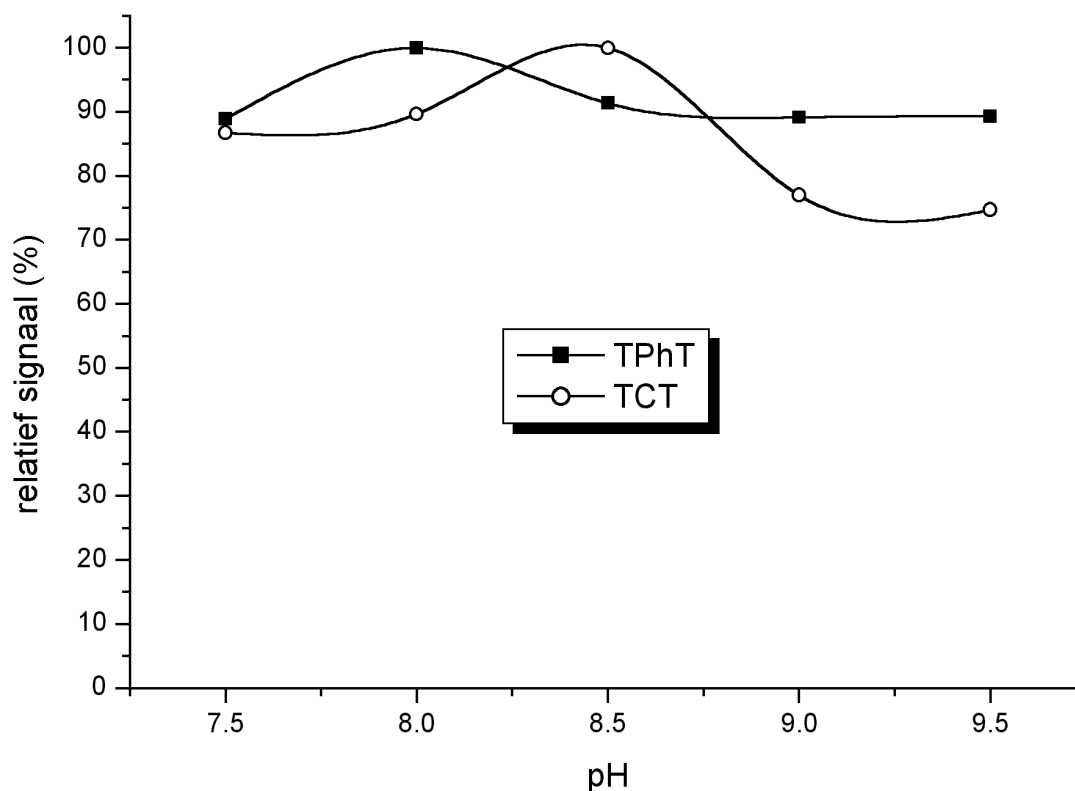


Figuur 7.1: Effect van de pH op derivatisatie + SPME van TPhT en TCT.
(gemiddelde van 3 metingen, acetaat-buffer, 75°C, 10 min headspace SPME)

Er kan opgemerkt worden dat de acetaatbuffer ($pK_a = 4,76$ bij 25°C) die in figuur 7.1 werd gebruikt niet over het volledige pH-gebied buffert. Deze buffer werd in eerste instantie gekozen omdat het de meeste courante buffer is binnen het organotinonderzoek. Bovendien zou het gebruiken van een andere buffer een extra parameter aan het experiment toevoegen. Uit een studie van Ceulemans et al. bleek al dat het soort buffer ook een invloed op de opbrengst kan hebben [Ceulemans, 1993]. Cai et al. vonden dat azijnzuur een positief effect heeft op de ethylatie van

butyltinverbindingen met NaBEt_4 . Dit effect bleek wel afhankelijk te zijn van de substitutiegraad van de verbinding. De auteurs vermoedden dat het effect te wijten is aan de vorming van butyltin carboxylaten die efficiënter zouden reageren met NaBEt_4 [Cai, 1994].

Omdat het maximum voor TPhT en TCT in dit werk bij veel hogere pH werd gevonden, werd besloten om op een $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ buffer ($\text{pK}_a = 9,25$ bij 25°C) over te schakelen. Een pH experiment met deze buffer (figuur 7.2) leverde een vergelijkbaar signaal op met een weliswaar minder uitgesproken trend. De absolute signalen van de maxima bij de twee experimenten waren sterk vergelijkbaar. Van een positief effect van het acetaat was voor TPhT en TCT dus weinig merkbaar.



Figuur 7.2: Effect van de pH op derivatisatie + SPME van TPhT en TCT.
(ammonium-buffer, 75°C , 10 min headspace SPME)

Hoewel de ethylatie met NaBEt_4 vrijwel steeds bij pH 4 - 5 wordt uitgevoerd, kan men deze consensus in vraag stellen. Dat de reactie benadeeld wordt bij lagere pH lijkt vrij evident omwille van de snelle degradatie van het reagens in zuur milieu. Waarom de reactie minder voordelig zou zijn bij hoge pH is veel minder duidelijk. Uit ander

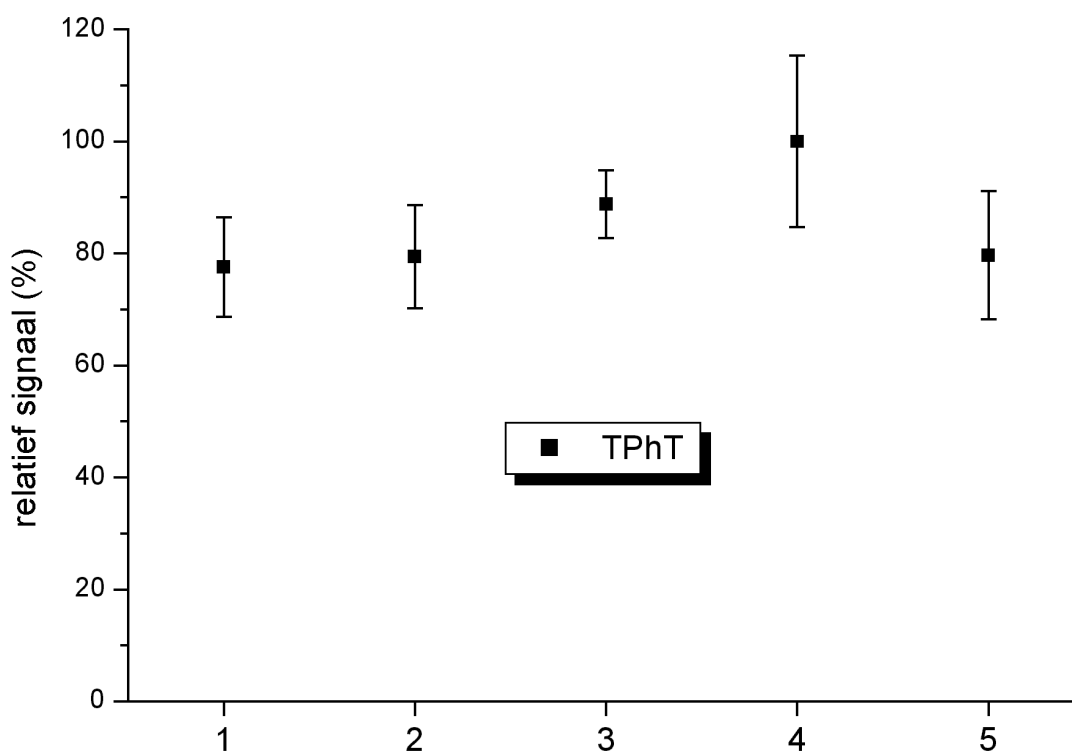
onderzoek blijkt ook dat de daling van de opbrengst bij een pH groter dan 5 voor bepaalde verbindingen vaak zeer beperkt is. De Smaele vond slechts een klein verschil qua opbrengst tussen pH 4 en pH 8 voor dimethyl- en trimethyllood [De Smaele, 1998]. Ceulemans et al. vonden ook zeer beperkte verschillen in opbrengst binnen de range van pH 3 tot pH 10 voor DPhT en TPhT [Ceulemans, 1993]. Enkel voor monoörganotinverbindingen lijkt de afname bij waarden onder pH 4 en boven pH 5 echt significant. Dit gegeven lijkt een duidelijke aanwijzing dat een verminderde opbrengst bij hoge pH eerder te wijten is aan het gedrag van bepaalde organotinverbindingen in waterig milieu en niet aan het reagens zelf. Vermoedelijk spelen deze factoren een veel kleinere (of zelfs geen) rol voor TPhT en TCT. De bevindingen van Szpunar-Lobinska et al. lijken deze hypothese te bevestigen [Szpunar-Lobinska, 1993]. In hun studie werd een on-column derivatisatie op de drie butyltinverbindingen en de drie fenyyltinverbindingen uitgevoerd. Voor alle verbindingen werd een maximale opbrengst bekomen bij een pH van 9 - 10. In tegenstelling tot bij de meeste toepassingen werden de ionaire verbindingen eerst gevangen op een C₁₈ kolom waarna een gebufferde NaBEt₄-oplossing door de kolom werd gestuurd. Tot slot werden de gederivatiseerde verbindingen van de kolom geëluëerd met methanol.

Uit de experimenten valt zeer moeilijk af te leiden wat de derivatisatieopbrengst van de reactie is. Bij een klassieke extractie zou men kunnen vergelijken met een tetraorganotinstandaard van om het even welk organotinsoort. Bij de gebruikte SPME-instellingen is er nog geen evenwicht en is de extractie verre van volledig. Het is daarom ook zinloos om het signaal van TPhT te vergelijken met een signaal van pakweg TeBuT. Enkel een vergelijking met zuiver trifenylethyltin zou zinvol zijn, maar deze verbinding is niet commercieel beschikbaar. Hierdoor is het apart onderzoeken van derivatisatie, los van de extractie, alles behalve gemakkelijk.

Ook in dit onderzoek kon het effect van pH en buffer niet volledig doorgrond worden. Er werd besloten om verder te werken met de condities die een maximaal signaal opleverden. Voor een TPhT-bepaling, met TCT als inwendige standaard werd een ammonium-buffer met pH 8,5 gebruikt en voor bepalingen van butyltinverbindingen werd, net als in het werk van De Smaele, een acetaat-buffer met pH 5 gebruikt.

1.3.3 Het reagens

Natriumtetraethylboraat wordt vrijwel altijd in grote overmaat toegevoegd onder de vorm van een vers bereide waterige oplossing met een concentratie van ongeveer 1 g per 100 mL. Bij het bereiden van de oplossing dient men contact tussen de bulk en lucht (water) zo veel mogelijk te vermijden. Reactie van het boraat met zeer kleine hoeveelheden water uit de lucht kan bijvoorbeeld aanleiding geven tot het spontaan ontbranden van Kimwipes waarop nog enkele restanten van het reagens aanwezig zijn.



Figuur 7.3: Effect van vijf verschillende scenario's (zie tekst) op de opbrengst van TPhT.
(+ standaardafwijking)

In het verleden werden verschillende parameters met betrekking tot gebruik van NaBEt_4 onderzocht voor tal van organometaalverbindingen. Voor TPhT en TCT waren deze gegevens niet beschikbaar en er werd derhalve besloten om de invloed van enkele parameters zelf te onderzoeken. Omdat de derivatisatie steeds werd uitgevoerd in combinatie met SPME (gedurende 10 minuten), kan men niet uitsluiten dat bepaalde parameters beide processen zullen beïnvloeden. Hierdoor is het niet altijd evident om een eenduidige verklaring voor bepaalde effecten te postuleren.

In figuur 7.3 zijn de resultaten voorgesteld van een experiment waarbij de opbrengst voor TPhT bij vijf verschillende scenario's werd getest. De verschillende scenario's zijn:

- 1: toevoeging van NaBEt₄ 24 uur voor extractie, bewaring bij 20°C.
- 2: toevoeging van NaBEt₄ 24 uur voor extractie, bewaring bij 4°C.
- 3: toevoeging van NaBEt₄ 1 uur voor extractie, bewaring bij 20°C.
- 4: toevoeging van NaBEt₄ 1 uur voor extractie, bewaring bij 4°C.
- 5: toevoeging van NaBEt₄ net voor extractie.

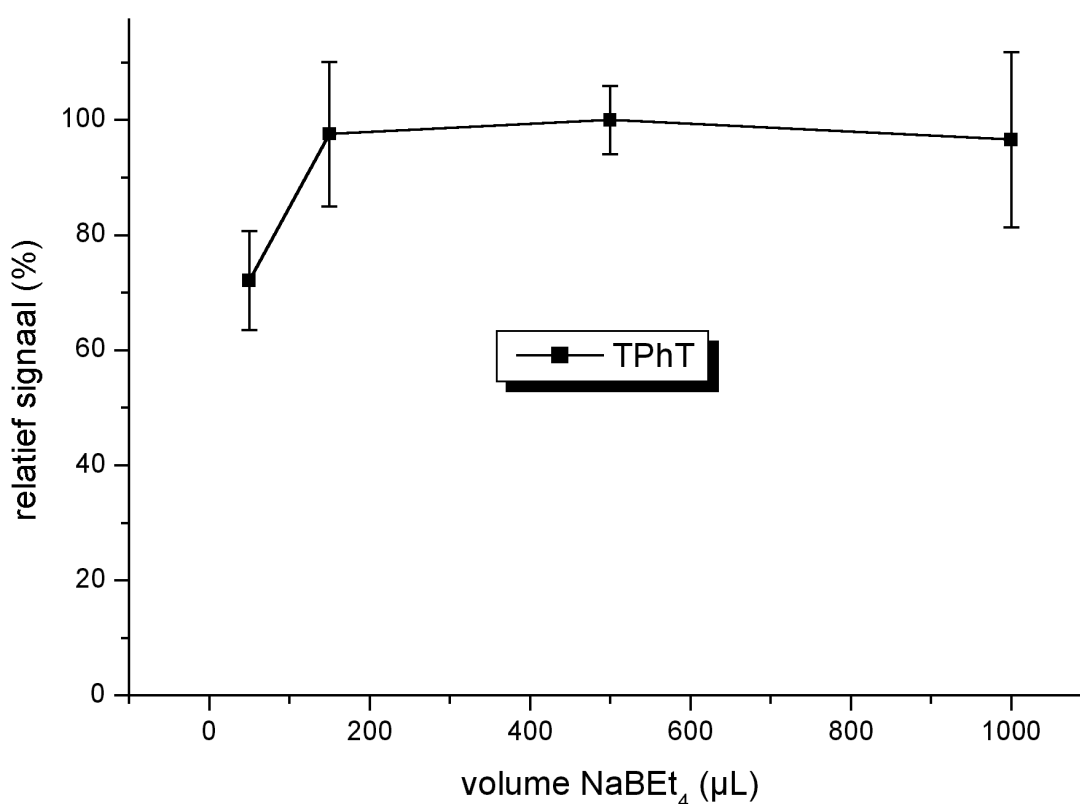
Er werd telkens 500 µL van een vers bereide oplossing toegevoegd. Alle oplossingen werden in het donker bewaard tot net voor de extractie. Na 2-weg ANOVA bleek dat:

- er geen interactie was tussen bewaartemperatuur en tijdstip van toediening
- de bewaartemperatuur geen invloed had
- het tijdstip van toediening wel een significante rol speelde.

Uit een LSD-toets bleek dat het toevoegen van NaBEt₄ 1 uur voor de extractie significant hoger was dan 24 uur ervoor en net ervoor. Tijdens het verdere verloop van het onderzoek werd het NaBEt₄ steeds ongeveer één uur voor de extractie toegevoegd.

In figuur 7.4 is de invloed van de hoeveelheid NaBEt₄ voorgesteld. Hoewel er in alle gevallen een zeer grote overmaat reagens wordt gebruikt, blijkt dit geen overbodige luxe te zijn. Uit de figuur blijkt dat er pas een verzadiging optreedt vanaf 150 µL. 50 µL, nochtans ook een grote overmaat, blijkt een significant lager signaal te geven in vergelijking met de andere drie hoeveelheden (ANOVA + LSD-toets met 50 µL als referentie). Voor andere optimalisatie-experimenten en bepalingen in zuiver water lijkt 500 µL een geschikte keuze. Een te grote overmaat NaBEt₄ is misschien minder aangewezen omdat het basische reagens de pH nadelig zou kunnen beïnvloeden. Daarnaast kan een te grote overmaat NaBEt₄ ook aanleiding geven tot contaminatieproblemen voor bepaalde verbindingen. Voor TPhT en TCT werden er geen blancoproblemen vastgesteld. De analyse van vluchtigere

organotinverbindingen bleek in het verleden wel vaak gestoord te worden door bijdragen van de blanco. Bij het experiment uit figuur 7.4 was ook duidelijk zichtbaar dat de signalen van de vluchtigere organotinverbindingen (vooral MBuT en DBuT) groter werden naarmate er meer NaBEt₄ werd toegevoegd. Andere onderzoekers rapporteerden reeds eerder contaminatieproblemen door NaBEt₄ voor organoloodverbindingen [Sturgeon, 1989], [Feldman, 1992]. De vermoedens dat NaBEt₄ ook voor contaminatie kan zorgen voor de bepaling van sommige organotinverbindingen, lijken te worden gesteund door recente experimenten van Devos [Devos, 2001].



Figuur 7.4: Effect van het volume toegevoegd NaBEt₄ (1% m/v) op de opbrengst van TPhT (+ standaardafwijking)

Om de stabiliteit van het NaBEt₄ na te gaan werd een experiment uitgevoerd waarbij NaBEt₄-oplossingen met een verschillende ouderdom werden gebruikt. De resultaten voor vers, twee dagen oud en één week oud NaBEt₄ (dat in alle gevallen bij 4°C werd bewaard) laten geen significant verschil zien (ANOVA). De conclusies die aan dit experiment kunnen gekoppeld worden zijn echter vrij beperkt omdat er in alle

gevallen een overmaat (500 μL van een 1% oplossing) werd toegevoegd. Uit figuur 7.4 blijkt dat een ongeveer drie keer lagere hoeveelheid een vergelijkbaar resultaat geeft. Een afbraak van minder dan 70% zou dus waarschijnlijk zelf niet opgemerkt worden omdat er toch nog voldoende NaBEt_4 aanwezig zou zijn voor reactie met de organotinverbindingen. Rekening houdend met de data uit figuur 7.4 had een experiment met pakweg 50 μL NaBEt_4 waarschijnlijk meer informatie kunnen opleveren. In plaats van het experiment te herhalen werd er simpelweg besloten om steeds vers NaBEt_4 te gebruiken.

Uit een vrij recent onderzoek blijkt dat het gradueel toevoegen van het NaBEt_4 een positief effect op de opbrengst heeft. Dit was in overeenstemming met de verwachtingen van de onderzoekers, die vermoeden dat NaBEt_4 snel reageert maar ook vrij snel wordt afgebroken [Schubert, 2000, B]. De techniek van het gradueel toevoegen werd in dit werk echter niet onderzocht.

1.3.4 Derivatisatieopbrengst

Zoals eerder al werd vermeld, is het niet eenvoudig om de derivatisatieopbrengst van de ethylatie te achterhalen. Er zijn zelfs verschillende indicaties dat de opbrengst lang niet altijd kwantitatief is. De combinatie met een niet-kwantitatieve extractie, zoals bij SPME, zal bovendien de derivatisatieopbrengst nog verder verminderen. Crnoja et al. kwamen tot de conclusie dat propylatie met NaBPr_4 verre van kwantitatief was bij kamertemperatuur wanneer de extractie met SPME werd uitgevoerd. In combinatie met een klassieke vloeistof-vloeistof extractie (LLE) was de opbrengst wel dicht bij 100% [Crnoja, 2001]. Volgens de auteurs was dit verschil te wijten aan het feit dat een snelle kwantitatieve extractie van de gederivatiseerde verbindingen bij LLE het reactie-evenwicht in gunstige zin verschuift (cfr. principe van Le Châtelier). Hoewel er geen onderzoek met NaBEt_4 werd uitgevoerd, lijkt het aannemelijk dat er een vergelijkbaar fenomeen kan optreden. Uit onderzoek van De Smaele bleek echter wel dat de propylatiereactie minder snel was dan de ethylatiereactie [De Smaele, 1998].

Een andere opmerkelijke bevinding uit de studie van Crnoja is dat de propylatieopbrengst groter is bij hogere temperatuur. In combinatie met SPME werd

dit effect echter tegengewerkt door een minder gunstige extractieopbrengst bij hogere temperatuur. Het valt niet uit te sluiten dat een verhoogde derivatisatieopbrengst het zeer grote effect van de temperatuur op de opbrengst mee kan verklaren (zie vorig hoofdstuk). Rekening houdend met de beperkte vluchtigheid is het echter waarschijnlijker dat een verhoogde temperatuur een positief effect heeft op zowel de derivatisatie als op de extractie van TPhT en TCT.

Meer algemeen kan men de sterke pH-afhankelijkheid ook als een indicatie beschouwen voor de beperkte 'robuustheid' van de derivatisatiereactie, en hetzelfde geldt voor het positief effect van acetaat op de reactie [Cai, 1994]. Bij het aandachtig bekijken van de resultaten van een experiment van De Smaele kan een opmerkelijke vaststelling gedaan worden. In het experiment, waarbij de respons voor enkele organometaalverbindingen in functie van de ouderdom van het NaBEt_4 werd onderzocht [De Smaele, 1998, p135] stelt men voor de butyltinverbindingen een duidelijke stijging van de opbrengst vast naarmate het NaBEt_4 ouder is (voor MBuT zelfs een verdubbeling). De enige conclusie die aan deze observatie werd verbonden was dat er 'geen uitgesproken dalende trend wordt waargenomen'. Een mogelijke verklaring voor de trend zou kunnen zijn dat de derivatisatieomstandigheden (om onbekende reden) bij gebruik van het vers boraat niet optimaal waren, niettegenstaande dat het experiment in combinatie met LLE werd uitgevoerd.

Er kan ook nog gewezen worden op een studie van Looser et al. Zij berekenden, naast een relatieve recovery, als een van de weinigen ook een absolute recovery voor hun analyse van reële monsters. Voor de relatieve recoveries, die berekend werden ten opzichte van nog niet gederivatiseerde organotinverbindingen in zeer zuiver water, vonden ze voor alle verbindingen een recovery in de reële monsters van ongeveer 100%. Op basis van dit gegeven kan men met relatieve zekerheid stellen dat de opbrengst voor "digestie + derivatisatie + extractie" in de monsters gelijk was aan die in het zuivere water. De absolute recoveries, die berekend werden ten opzichte van reeds geëthyleerde standaarden, varieerden tussen 56% en 72% [Looser, 2000]. Hoewel het niet uit te sluiten is dat de digestie of extractie ook een invloed hadden, lijkt een onvolledige derivatisatie de meest waarschijnlijke verklaring voor de lagere recoveries.

De vermoedens in verband met een (soms) onvolledige derivatisatie werden recent ook naar voor gebracht in een overzicht van derivatisatiemethoden voor organometaalverbindingen [Rosenberg, 2001].

Op basis van de bovenstaande bedenkingen, en rekening houdend met de moeilijkheid om een absolute derivatisatieopbrengst te berekenen, lijkt het gebruik van standaardadditie de meest geschikte methode om kwantitatieve analyses uit te voeren wanneer men NaBEt_4 in combinatie met SPME gebruikt.

1.4 Digestie

Een van de belangrijkste stappen binnen de speciatieanalyse is het 'losmaken' van de analieten uit de matrix. Wanneer men met organische monsters te maken heeft spreekt men hierbij van een digestie, die vaak nauw verbonden is met de extractie. Bij de digestie mogen geen drastische technieken (b.v. volledige destructie van de matrix met sterke zuren) toegepast worden, zoals dat gebeurt bij elementbepaling, omdat de identiteit van de 'species' ongewijzigd moet blijven. Het komt er dus op neer dat de digestie enerzijds voldoende krachtig moet zijn om de interactie tussen analiet en matrix te verbreken maar anderzijds niet de kracht mag hebben om de analietverbindingen af te breken. De combinatie van de twee factoren zorgt er voor dat de omstandigheden, waarvoor een maximale recovery gepaard gaat met een minimale afbraak, vaak zeer kritisch zijn [Rosenberg, 2001].

Een bijkomend probleem is het soms grote verschil in fysico-chemische eigenschappen tussen verschillende organometaalverbindingen van eenzelfde familie. Terwijl MBuT sterk polair is en vooral gebonden zal zijn door ionaire interactie, is TPhT een sterk lipofiele verbinding die vooral met de matrix zal interageren door van der Waals krachten. Het is daarom ook zeer moeilijk (onmogelijk ?) om een methode te ontwikkelen die een kwantitatieve recovery oplevert voor alle analieten in om het even welk type matrix. Zoals gezegd, werd de aandacht in dit werk toegespitst op organische monsters. Bovendien beperkte dit deel van het onderzoek zich ook tot TPhT en TCT.

Logischerwijs wordt de digestiestap uitgevoerd voor de derivatisatie. In dit hoofdstuk wordt echter de chronologische volgorde van het onderzoek gerespecteerd. Eerst werd de derivatisatie geoptimaliseerd met standaardoplossingen alvorens met de analyse van reële monsters werd aangevat.

1.4.1 Overzicht

De belangrijkste digestiemethoden voor organometaalspeciatie in biologische monsters zijn:

- enzymatische hydrolyse
- basische hydrolyse
 - met tetramethylammoniumhydroxide (TMAH)
 - met KOH + ethanol of methanol

Bij enzymatische hydrolyse wordt er meestal gebruik gemaakt van twee soorten enzymen: Lipase (type VII) om vetten af te breken en Protease (type XIV) om eiwitten in hun aminozuren op te breken. Het grote voordeel van deze techniek is dat alles gebeurt onder zeer milde omstandigheden (neutrale pH, kamertemperatuur of 37°C). De vrij lange duur van de trage digestie is echter minder voordelig. In het beste geval duurt de hydrolyse een viertal uur [Pannier, 1996], [Ceulemans, 1994], maar meestal gebruikt men een digestietijd van 12 tot 24 uur [Forsyth, 1991]. Een ander nadeel is dat er in combinatie met de derivatisatie schuim- en emulsievorming kan optreden waardoor de extractie, zeker in geval van headspace SPME, sterk kan bemoeilijkt worden [De Smaele, 1998].

Basische hydrolyse met TMAH of KOH vindt plaats onder iets minder milde omstandigheden. Het grote voordeel van deze methode is dat de digestie aanzienlijk sneller is dan bij enzymatische hydrolyse. Meestal gebruikt men digestietijden van één tot twee uur [Fischer, 1993], [Ceulemans, 1994], [Nagase, 1995]. In combinatie met laag vermogen (45 W) microgolven bleek digestie van visweefsel met TMAH zelfs mogelijk binnen de drie minuten [Slaets, 1999].

Het gebruik van zure digestie (met geconcentreerd HCl) is niet aangewezen om organotinverbindingen te bepalen. Voor het zuurgevoelige TPhT kan deze methode zelfs tot volledige afbraak leiden [Ceulemans, 1994]. Ook onder minder drastische omstandigheden (pH 2 gedurende één uur) blijkt de afbraak van TPhT significant te zijn [Müller, 1987].

Na de digestiestap wordt er zuur (HCl of HOAc) en buffer (meestal 0,2 M) toegevoegd om de overmaat base te neutraliseren en de pH aan te passen voor de daaropvolgende derivatisatie.

1.4.2 Voorbehandeling

Wanneer organische monsters niet onmiddellijk kunnen geanalyseerd worden, doet men er goed aan om ze te vriesdrogen alvorens ze (meestal bij lage temperatuur) op te slaan [Gomez Ariza, 2000]. Het verwijderen van het water zorgt er niet alleen voor dat het organisch materiaal langer bewaard kan blijven, maar vereenvoudigt ook het homogeniseren van het monster. Bovendien maakt het vergelijken van concentraties in monsters met een verschillend watergehalte eenvoudiger.

In de praktijk werd het vriesdrogen uitgevoerd gedurende een tweetal dagen (tot er geen waterverlies meer merkbaar was) met een Leybold-Heraeus vriesdroger (Hanau, Duitsland). Enkel mossel- en aardappelmonsters werden aan deze procedure onderworpen. Vismonsters werden steeds quasi onmiddellijk geanalyseerd. Uit het gewichtsverlies dat optrad tijdens het proces werd het oorspronkelijke watergehalte (gewichtspersent) berekend. Voor de mossel- en aardappelmonsters bedroeg dit gemiddeld 79%, respectievelijk 83%.

Na het vriesdrogen werd het droge monstermateriaal gemalen in een Retch 'ball mill' (Haan, Duitsland). Omdat mosselmonsters vrij veel fibreus materiaal bevatten dat niet maalbaar is en problemen kan veroorzaken qua homogeniteit, werd het poeder gezeefd. Dit proces is analoog aan het zeefproces dat gebruikt werd bij de aanmaak van het gecertificeerd referentiemateriaal CRM 477 (butyltinverbindingen in mosselpoeder) [Quevauviller, 1997]. Voor het aardappelpoeder bleek deze stap niet

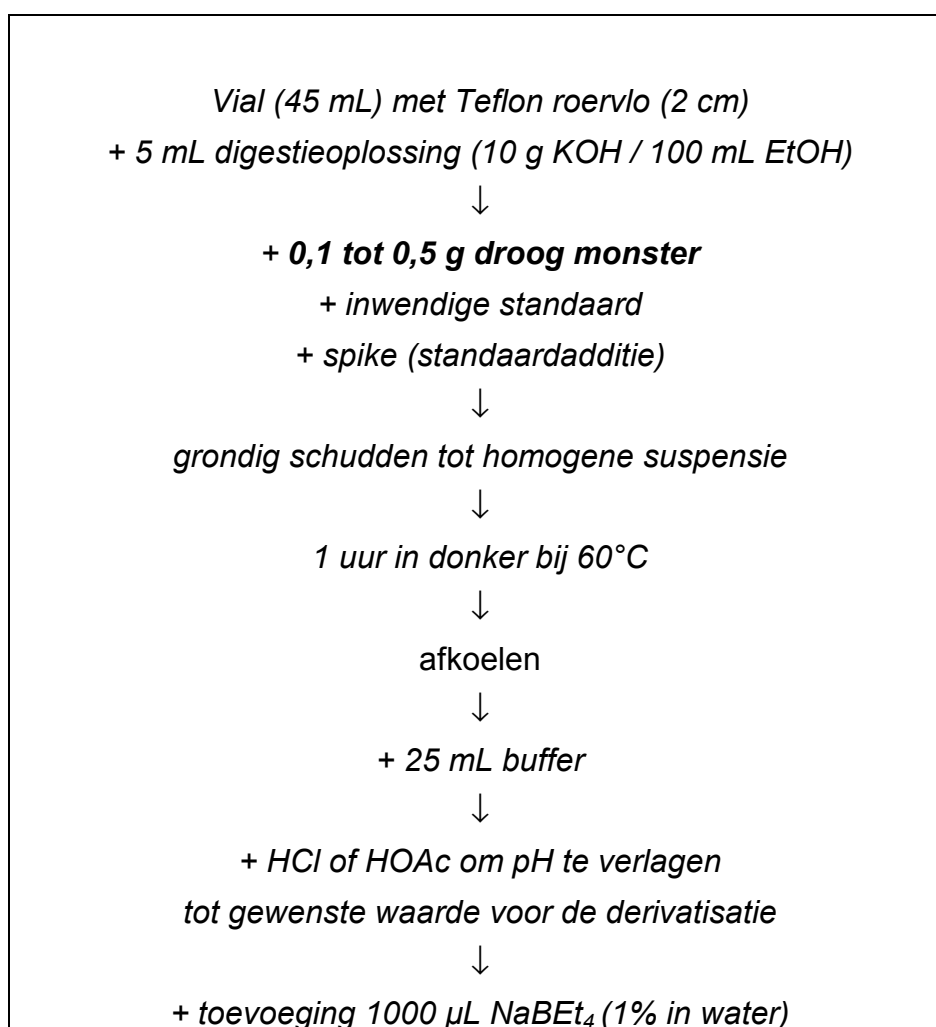
nodig te zijn. Vervolgens werden de verschillende poeders luchtdicht verpakt en bewaard in het donker bij -20°C.

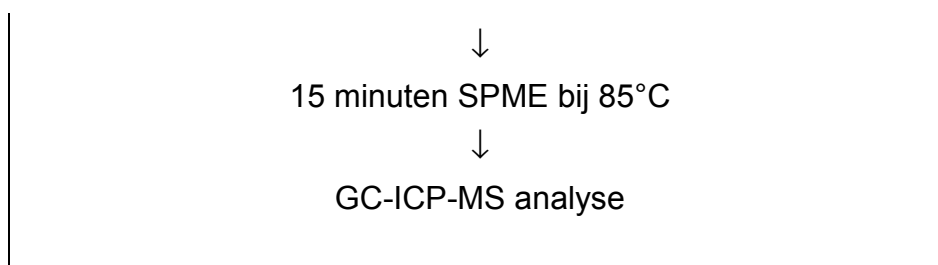
Bij aanvang van de eigenlijke analyse was het aangewezen om het gevriesdroogde monster zodanig te bevochtigen dat het samenklitten van het poeder vermeden werd. Hiervoor werd het poeder tijdens het toevoegen van de digestieoplossing geroerd met de aanwezige roervlo of werd eerst de oplossing in de vial gebracht.

1.4.3 Digestie met KOH/EtOH

1.4.3.1 Procedure

De procedure die tijdens dit werk werd toegepast, was gebaseerd op het werk van Nagase [Nagase, 1995] en De Smaele [De Smaele, 1998] en zag er als volgt uit:





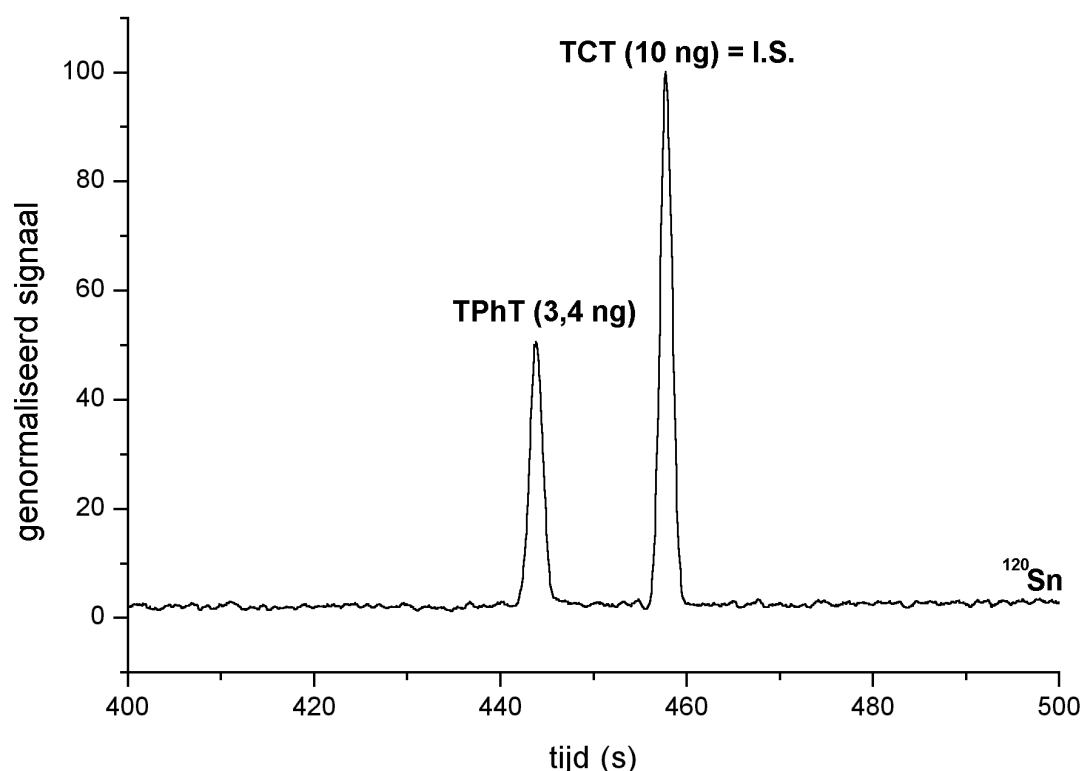
1.4.3.2 Toepassing

Omwille van de complexiteit van de analyse en de mogelijke invloed van tal van factoren lijkt een methode als standaardadditie of isotopendilutie onontbeerlijk om accurate resultaten te bekomen. In dit werk werd steeds geopteerd voor standaardadditie.

De hoger beschreven methode werd in combinatie met SPME toegepast voor de bepaling van TPhT in Zeeuwse mosselen (na vriesdrogen). De verse mosselen, van het type 'Jumbo' werden in een lokale supermarkt gekocht. Voor elk type oplossing werden vier metingen uitgevoerd. Er werd telkens 0,5 g monster afgewogen. Aan elke oplossing werd 10 ng TCT toegevoegd als inwendige standaard. De spike bedroeg 10 ng TPhT. SPME werd gedurende 15 min bij 85°C uitgevoerd om een hogere gevoeligheid te verkrijgen. De resultaten zijn voorgesteld in tabel 7.2. Een chromatogram van een monsteroplossing zonder spike is voorgesteld in figuur 7.5.

Tabel 7.2: Resultaten van een analyse van een mosselmonster. Kwantificatie op basis van standaardadditie + inwendige standaardisatie met TCT, digestie met KOH/EtOH, extractie met SPME.

	signaal na correctie met IS (TPhT/TCT)	95% c.i.
Blanco	0,00285	0,00006
Monster	0,67	0,33
Monster + spike	2,66	0,29
Hoeveelheid in oplossing (ng)	3,38	1,65
Concentratie in droog monster (ng/g)	6,76	3,24
Concentratie in 'nat' monster (ng/g)	1,35	0,65



Figuur 7.5: Chromatogram van TPhT-bepaling in een Zeeuwse mossel.
Digestie met KOH/EtOH, extractie met headspace SPME.

Voor de manier waarop de onzekerheid op de concentratie werd berekend, wordt verwezen naar referentie [Massart, 1997]. Een uitgebreide bespreking van de berekening valt niet binnen het kader van dit werk. Het volstaat om te stellen dat deze berekening rekening houdt met de onzekerheid op de regressie, het aantal metingen en de spreiding van de meetpunten. De onzekerheden die verder in dit werk gegeven worden voor analyseresultaten op basis van standaardadditie zijn op dezelfde manier berekenend.

De lage spreiding op de blanco kan slechts deels verklaard worden door het corrigerend effect van de inwendige standaard. Hoewel toeval natuurlijk nooit uit te sluiten is, was de gebruikte TCT-oplossing vermoedelijk in zeer lichte mate gecontamineerd door TPhT. Hierdoor zou de verhouding TPhT/TCT iets groter, maar ook constanter (= kleinere 'relatieve' spreiding) zijn dan verwacht. De absolute waarde van de blanco was echter zeer klein (bijna 250 keer kleiner dan het signaal van het monster), zodat er op het ppt-niveau geen problemen verwacht worden.

De berekende concentratie in de mosselen ligt in dezelfde orde als de concentraties die gevonden werden in Zeeuwse mosselen [Ceulemans, 1994] en in Franse oesters [Yamanaka, 2000].

De methode werd ook nog toegepast op een ander type Zeeuwse mosselen en op aardappelen waarvan geweten was dat de planten behandeld waren met het TPhT bevattende fungicide 'Super-Tin'. De concentratie TPhT in de mosselen bedroeg 5 ng/g, in de aardappelschil 3 ng/g en in het vruchtvlees 0,1 ng/g. Het verschil in concentratie tussen schil en vruchtvlees was te verwachten. TPhT is een contactfungicide dat, in tegenstelling tot systemische fungiciden, niet in de plant binnendringt. De beperkte aanwezigheid in (of eerder 'op' ?) de aardappelen is dus vermoedelijk enkel afkomstig van TPhT dat door insijpeling in de bodem in contact komt met de aardappelknollen.

Digestie met KOH werd ook gebruikt als referentiemethode bij de controle van de accuratesse van stir bar sorptive extraction (SBSE). Deze toepassing zal in het volgende hoofdstuk aan bod komen.

1.4.4 Digestie met NaBEt₄

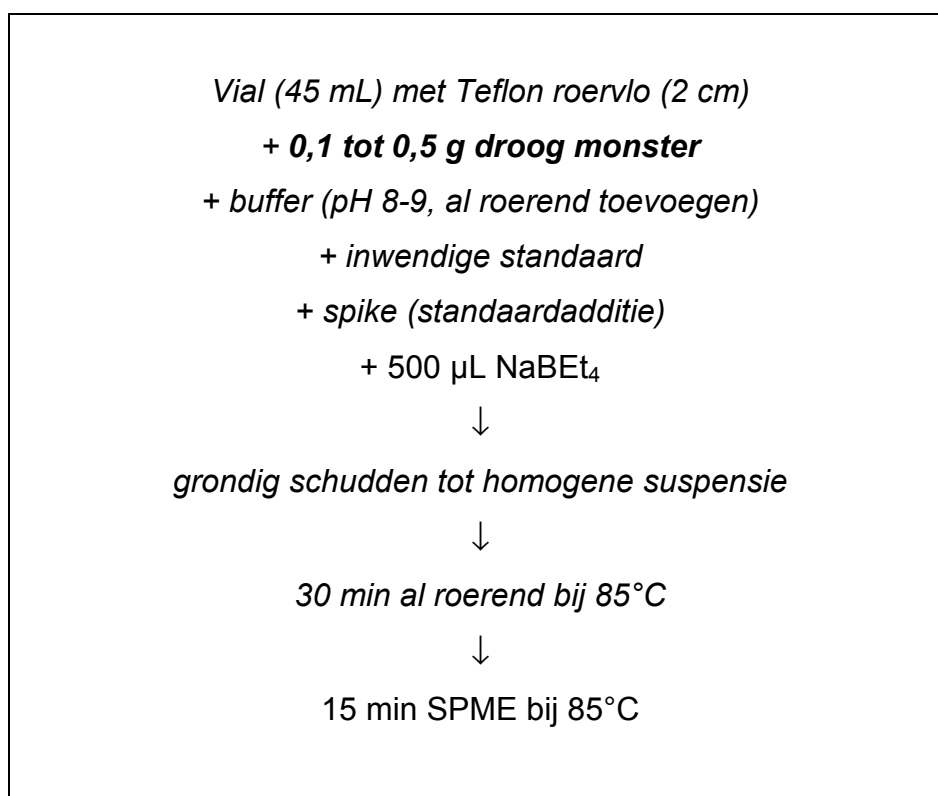
De afbraak van het organisch materiaal door TMAH of KOH is te wijten aan hydrolyse bij hoge temperatuur in het basisch milieu. Omdat NaBEt₄ zich in waterig milieu ook als base gedraagt, ontstond het vermoeden dat dit derivatisatiereagens mogelijk ook bruikbaar zou zijn om de digestie uit te voeren. Aangezien SPME voor TPhT sowieso bij verhoogde temperatuur en bij een basische pH wordt uitgevoerd lijken de belangrijkste voorwaarden reeds vervuld. In tegenstelling tot de gewone basische digestie is het voor deze methode niet aangewezen om pas in een tweede stap de buffer toe te voegen omdat reeds gederivatiseerde verbindingen zouden kunnen verloren gaan door vervluchtiging. Het lijkt daarom aangewezen om de buffer ofwel voor het NaBEt₄ toe te voegen, ofwel om zonder buffer te werken. In het eerste geval lijkt het niet uitgesloten dat de digestie onvolledig is, maar staat er tegenover dat de derivatisatie beter zal doorgaan. In het tweede geval verwacht men een betere digestie, maar een lagere derivatisatieopbrengst. Ongeacht de grootte van het uiteindelijke signaal, is de tweede situatie gunstiger omdat er met standaardadditie

kan gecorrigeerd worden voor een afwijking in derivatisatieopbrengst. Een onvolledige digestie valt niet op te vangen door eender welke vorm van correctie en zal bijgevolg steeds tot onderschatting van de aanwezige concentratie leiden.

In combinatie met SPME kan de mate van digestie ook een invloed hebben op de signaalonderdrukking. In principe zijn accurate resultaten mogelijk vanaf het moment dat alle aanwezige analietverbindingen 'ontsloten' zijn. Een verder doorgedreven afbraak van het organisch materiaal zal echter tot een daling van het aantal grote organische moleculen leiden, waardoor de soms erg drastische signaalonderdrukking die typisch is bij headspace SPME, kan gereduceerd worden. Door een verminderde onderdrukking verwacht men een betere gevoeligheid en betere analytische karakteristieken.

1.4.4.1 Procedure en validatie

In eerste instantie werd er voor TPhT een procedure 'met' buffer getest op het mosselpoeder dat geanalyseerd werd na KOH-digestie (zie tabel 7.2):



De resultaten, die eveneens werden berekend op basis van standaardadditie en inwendige standaardisatie zijn voorgesteld in tabel 7.3. De hoeveelheden inwendige standaard en spike, en de SPME condities waren identiek aan die na KOH-digestie.

De berekende concentratie blijkt in goede overeenkomst te zijn met de waarde die gevonden werd na KOH-digestie (er kon geen significant verschil worden aangetoond op het 95% confidentieniveau). Dit resultaat is, gezien de lage concentratie (ppt-niveau) en de eenvoud van de procedure, vrij opvallend en lijkt een indicatie te zijn voor de bruikbaarheid van de methode. De grote onzekerheid is vooral te wijten aan het beperkt aantal metingen (b.v. slechts twee voor 'monster+spike'). Naarmate het aantal metingen lager is zal namelijk ook het 95% confidentie-interval breder zijn. Het brede confidentie-interval dat hier gerapporteerd wordt, is dus een direct gevolg van de grote t-waarden voor een laag aantal vrijheidsgraden.

Tabel 7.3: Resultaten van een analyse van een mosselmonster. Berekening op basis van standaardadditie + inwendige standaardisatie met TCT, digestie met NaBEt₄, extractie met SPME.

	signaal na correctie met IS (TPhT/TCT)	95% c.i.
Blanco	0,00282	0,00019
Monster	0,200	0,11
Monster + spike	0,887	1,31
Hoeveelheid in oplossing (ng)	2,92	2,63
Concentratie in droog monster (ng/g)	5,84	5,26
Concentratie in 'nat' monster (ng/g)	1,17	1,05

De signaalverhouding TPhT/TCT blijkt, voor het 'monster' en het 'monster + spike', lager te zijn dan bij de KOH-methode. Dit kan op twee manieren verklaard worden:

1. Mogelijk is de afbraak van de organische matrix minder ver doorgedreven waardoor er relatief meer grote organische moleculen in oplossing blijven. De lagere signaalverhouding, kan dan verklaard worden door een verschil in

gevoeligheid voor dit soort signaalonderdrukking, wat resulteert in een verschil in **extractieopbrengst**.

2. Rekening houdend met de beperkte robuustheid van de derivatisatie, lijkt het waarschijnlijk dat de **derivatisatieopbrengst**, en de verhouding van de twee opbrengsten, voor TPhT en TCT verschillend zal zijn voor de twee methoden. Dit kan onder andere te maken hebben met een kleinere fractie van het NaBEt_4 dat beschikbaar is voor een derivatisatiereactie in het geval het NaBEt_4 ook voor de digestie moet instaan. Dergelijke effecten op de derivatisatieopbrengst kunnen dus ook aanleiding geven tot een verschuiving van de signaalverhouding.

Een experiment waarbij het signaal in functie van de hoeveelheid NaBEt_4 wordt onderzocht, zou waarschijnlijk meer klaarheid in deze materie kunnen brengen.

Wanneer een monsteroplossing na KOH-digestie visueel vergeleken werd met een monster dat een NaBEt_4 -digestie had ondergaan, was er een waarneembaar verschil. KOH-digestie leverde een vrij homogene troebele oplossing terwijl er bij een NaBEt_4 -digestie een soort vlokvorming optrad. Deze observatie wijst mogelijk op een verschil (in vorderingsgraad) tussen de twee digestiemethoden.

In tweede instantie werd een nog eenvoudigere methode, zonder toevoeging van buffer, getest op het referentiemateriaal CRM 477. De resultaten ervan zijn weergegeven in tabel 7.4. Voor dit referentiemateriaal werden ook de concentraties aan DBuT en TBuT bepaald.

Tabel 7.4: Organotinconcentraties \pm 95% confidentie-interval ($\mu\text{g/g}$, als kation, in droog materiaal) in CRM 477 berekend op basis van standaardadditie. Digestie met NaBEt_4 , zonder buffer.

	DBuT	TBuT	TPhT
Gemeten concentratie	$1,35 \pm 0,12$	$1,71 \pm 0,24$	$1,63 \pm 0,27$

Gecertificeerde concentratie (\pm spreiding op het gemiddelde)	$1,54 \pm 0,12$	$2,20 \pm 0,19$	$1,58 \pm 0,31^*$
Gecertificeerde concentratie (\pm spreiding op individuele waarden)	$1,54 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,77$	$1,58 \pm 0,98$

*TPhT werd niet opgenomen in het certificatie-rapport van CRM 477. De vermelde waarde is een indicatieve waarde [Morabito, 1998].

De interpretatie van de data in tabel 7.4 vergt enige uitleg. De spreiding op de gecertificeerde waarden wordt vrijwel steeds vermeld als een spreiding op het gemiddelde (bekomen na uitmiddeling over n laboratoria). Wanneer men echter het resultaat van een $n+1^e$ laboratorium wil vergelijken met de bestaande dataset, dient men de spreiding op de n individuele resultaten van de n laboratoria te beschouwen. In ons geval blijken de bekomen gemiddelden voor de drie verbindingen binnen het 95% confidentie-interval te liggen. Men kan dus stellen dat de hier bekomen resultaten in goede overeenkomst zijn met de waarden uit de referentiecampa-gne.

1.4.4.2 Toepassing

Niettegenstaande de methode zonder buffer uitblinkt door haar eenvoud en in staat blijkt te zijn om accurate resultaten te produceren, wordt ze enigszins gehinderd door een lagere gevoeligheid. Hoewel bij deze procedure de afbraak hoogstwaarschijnlijk verder doorgedreven zal zijn, in vergelijking met de procedure met buffer, zijn de derivatisatieomstandigheden vermoedelijk nog verder van optimaal. Daarbij komt ook nog dat de concentratie aan organisch materiaal veel groter zal zijn omdat er geen verdunning door de buffer plaatsvindt. Dit effect zal vermoedelijk ook voor een grotere signaalonderdrukking zorgen. Voor de toepassingen werd er daarom enkel gebruik gemaakt van de methode met buffer.

De methode werd toegepast om verse vismonsters, die vooraf niet gevriesdroogd waren, te analyseren. Er werden drie soorten vis aangekocht in een lokale viswinkel: pladijs, kabeljauw en victoriabaars. De concentraties werden zoals steeds berekend op basis van standaardadditie en zijn weergegeven in tabel 7.5. Als monstermassa

werd 500 mg 'nat' monster gebruikt, wat overeenstemt met ongeveer 100 mg gevriesdroogd monster.

Tabel 7.5: Concentraties van drie organotinverbindingen in verschillende vissoorten (ng/g).

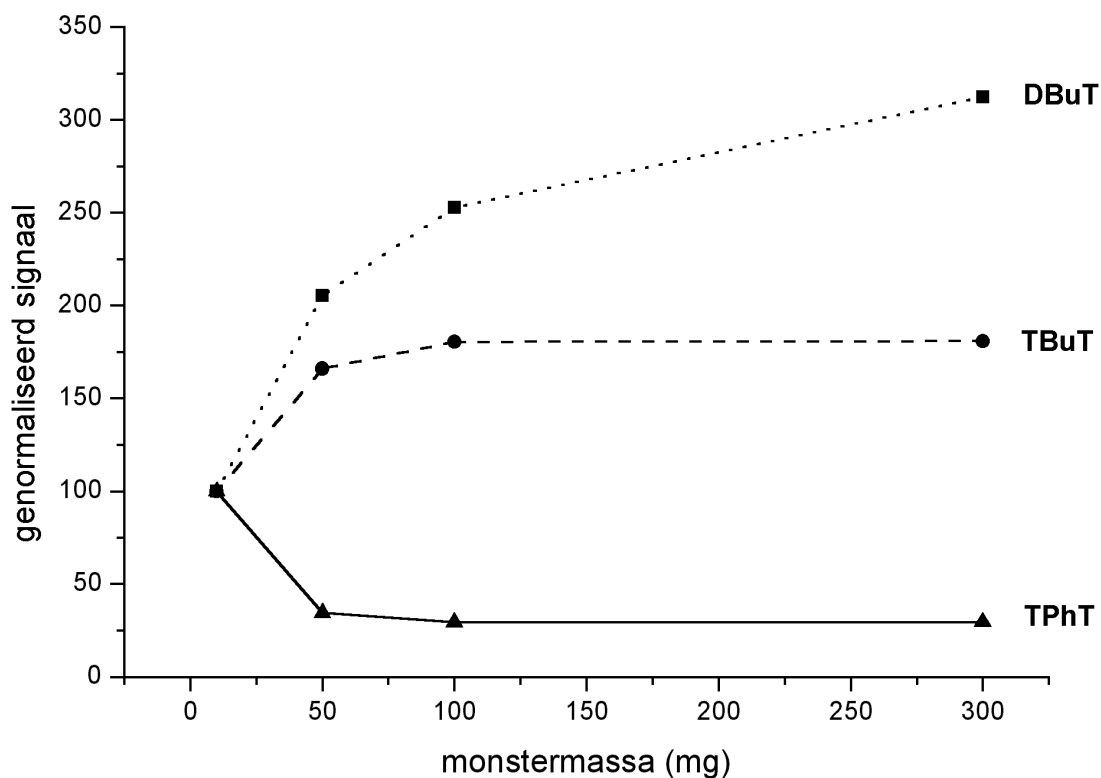
	DBuT	TBuT	TPhT
Pladijs	0,19	0,07	0,71
Kabeljauw	0,13	0,08	< LOD
Victoriabaars	< LOD	0,02	< LOD
LOD	0,004	0,004	0,3

Bij de analyse van een andere pladijs werd het visvlees en het vet apart geanalyseerd. Daarbij bleek de verhouding van de concentratie in het vet tot de concentratie in de vis voor DBuT en TBuT 2,25 respectievelijk 4,76 te zijn. Dit verschil is waarschijnlijk te wijten aan het verschil in lypofiel karakter tussen het diorganotin en het triorganotin. Voor TPhT was de concentratie te laag om een zinnige conclusies aan de verhouding (= ca. 1) te verbinden.

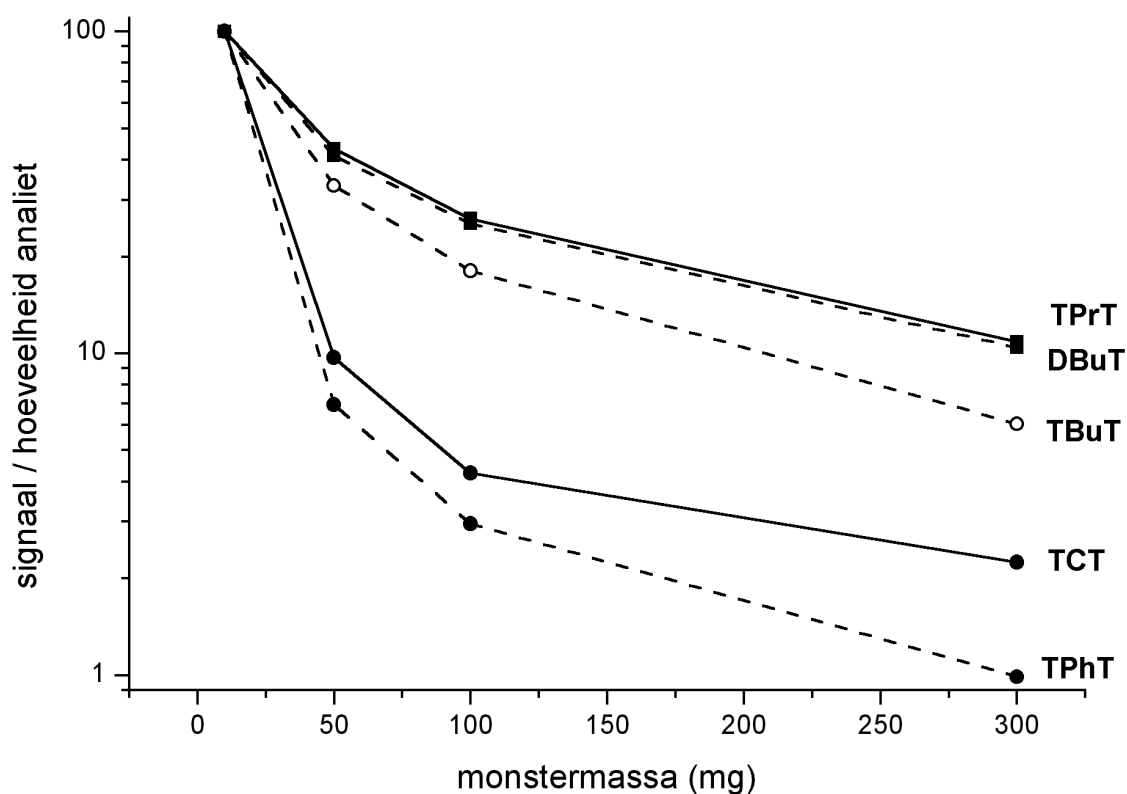
De LOD's die in de tabel vermeld zijn, werden berekend op basis van een zeer beperkt aantal blanco's (n= 3 of 4) en geven slechts de grootteorde van de LOD aan. Een langere extractietijd dan de hier gebruikte 15 min en een andere monstermassa (zie volgende paragraaf) kunnen de LOD nog aanzienlijk verbeteren.

1.4.5 Invloed van de monstermassa

Om een beter inzicht te krijgen in het derivatisatie- en extractieproces werd een experiment uitgevoerd waarbij de monstermassa gevarieerd werd tussen 10 en 300 mg. Als monster werd het CRM 477 (gevriesdroogd mosselpoeder) gebruikt. Voor de digestie werd de methode op basis van NaBEt₄, met buffer, gebruikt. De extractie werd, zoals gewoonlijk, uitgevoerd met headspace SPME bij 75°C. Bij elk monster werd een constante hoeveelheid van de inwendige standaarden TPrT en TCT toegevoegd. De resultaten voor DBuT, TBuT en TPhT zijn voorgesteld in figuur 7.6.



Figuur 7.6: Effect van de monstermassa op het signaal van DBuT, TBuT en TPhT.



Figuur 7.7: Signalen na correctie voor de totale aanwezige hoeveelheid in de oplossing. Gezien hun constante hoeveelheid in de oplossing, werd er voor de inwendige standaarden (TPrT en TCT, volle lijnen) geen correctie toegepast.

Omdat samen met de monstermassa, ook de hoeveelheid analiet toeneemt werd het signaal gedeeld door de monstermassa. Deze profielen werden samen met de signalen van de inwendige standaarden TPrT en TCT (waarvan de aanwezige hoeveelheid constant bleef) voorgesteld in figuur 7.7.

Het mag duidelijk zijn dat de waargenomen trends een weerspiegeling kunnen zijn van verschillende effecten die bovendien synergetisch of antagonistisch kunnen werken. Een variërende monstermassa kan de efficiëntie van zowel de digestie, de derivatisatie als de extractie beïnvloeden.

Als verklaring voor de waargenomen trends, kunnen er verschillende stellingen/hypotheses aangebracht worden:

1. Een grotere monstermassa leidt tot een grotere hoeveelheid analiet
2. Een grotere monstermassa leidt tot een lagere opbrengst met headspace SPME omwille van extractieonderdrukking (door competitie tussen extractie in de fiber en adsorptie aan de organische fase)
3. Een grotere monstermassa leidt tot een groter 'verbruik' van het NaBEt₄ waardoor ...
 - a. er minder NaBEt₄ beschikbaar is voor de derivatisatie waardoor de derivatisatieopbrengst kan variëren
 - b. de digestie minder ver zal doorgaan en er relatief meer grote organische moleculen aanwezig zullen zijn
 - c. de digestie mogelijk onvoldoende zal zijn om alle analietverbindingen in een 'vrije' positie te brengen
4. De mate van beïnvloeding op verschillende organotinverbindingen is afhankelijk van de structuur (en met name het organisch karakter) van de molecule. Dit geldt zowel voor....
 - a. extractieonderdrukking
 - b. variatie in derivatisatieopbrengst
 - c. de mate van vrijstelling van de verbindingen (de plaats waar een analiet zich bevindt in de matrix zal afhangen van zijn organisch karakter)

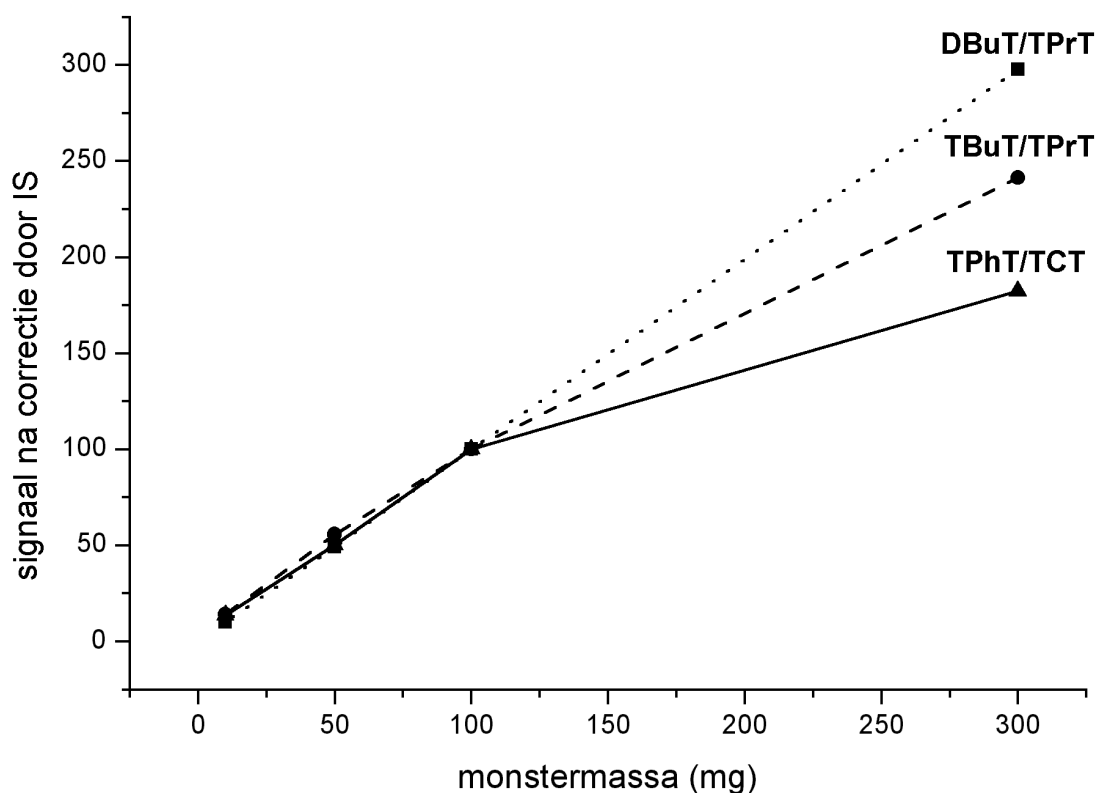
Uitspraken 1 en 2 zijn hoogstwaarschijnlijk de belangrijkste en kunnen de algemene trends verklaren. De andere uitspraken zijn eerder gericht op de verschillen tussen de verbindingen. Van alle uitspraken zal enkel uitspraak 3c, indien deze hypothese waar zou blijken, leiden tot onjuiste resultaten. Voor de andere effecten kan er met behulp van geschikte inwendige standaardisatie of standaardadditie gecorrigeerd worden (mits er voldoende tijd is om de spike in evenwicht te laten komen met de reeds aanwezige verbindingen).

De stijging voor DBuT en TBoT die in figuur 7.6 wordt waargenomen is vermoedelijk toe te schrijven aan (1) de toegenomen 'aanwezigheid' van de verbindingen. De toename blijkt echter minder groot dan verwacht op basis van de toename in monstermassa. Dit is waarschijnlijk te wijten aan (2) de grotere signaalonderdrukking op de extractie. De kleinere stijging voor TBoT ten opzichte van DBuT kan men toeschrijven aan (4a) het organisch karakter van de verbinding. Voor TPhT is deze onderdrukking mogelijk nog veel groter dan voor TBoT waardoor er een nog grotere hinder van dit effect kan verwacht worden. Het toegenomen onderdrukkingseffect voor moleculen met een groter organisch karakter (4a) kan ook afgeleid worden uit figuur 7.7.

Het feit dat er een daling is voor TPhT kan niet enkel door een toename in absolute hoeveelheid organisch materiaal verklaard worden. Dit zou in het slechtste geval enkel tot een constant signaal in functie van de monstermassa kunnen leiden. De daling is waarschijnlijk te wijten aan (3b) een grotere aanwezigheid van grote organische moleculen door een relatief minder ver doorgedreven afbraak of door (3a) een verminderde derivatisatieopbrengst. Het feit dat het TCT-sigitaal (figuur 7.7) ook meer daalt dan verwacht op basis van een toegenomen monstermassa (b.v. monstermassa van 10 naar 50 en signaal van 100 naar 10) lijkt deze hypothesen (of minstens één ervan) te bevestigen.

Anderzijds zou ook de (ongewenste) hypothese (3c) dat de vrijstelling van de verbindingen onvolledig is dit effect kunnen verklaren. De toegevoegde inwendige standaarden ondervinden echter geen nadeel van een onvolledige vrijstelling. Van deze eigenschap kan gebruik gemaakt worden om de waarschijnlijkheid van de hypothese in te schatten. In figuur 7.8 is het signaal, na correctie door de inwendige

standaard, voorgesteld. Voor DBuT wordt er een lineair gedrag over het volledige massabereik waargenomen. Bovendien blijkt het gecorrigeerde signaal recht evenredig te zijn met de monstermassa. Dit gegeven maakt hypothese 3c zeer onwaarschijnlijk. Want zou er effectief een onvolledige vrijstelling zijn, dan zou er zeker een negatieve afwijking van het lineair gedrag waargenomen worden. Hetzelfde kan gezegd worden voor TBuT en TPhT tot en met 100 mg. Bij een hogere massa kan men niet uitsluiten dat hypothese 3c zou gelden, hoewel het effect ook door andere hypothesen verklaard kan worden. Bovendien zou 3c enkel kunnen gelden indien men ook (4c) een verschil in ruimtelijke distributie tussen de verschillende verbindingen aanneemt. Zoniet zal een volledige vrijstelling van DBuT ook impliceren dat TBuT en TPhT 'vrij' zijn.



Figuur 7.8: Signaalverhouding van analiet/inwendige standaard in functie van de monstermassa.

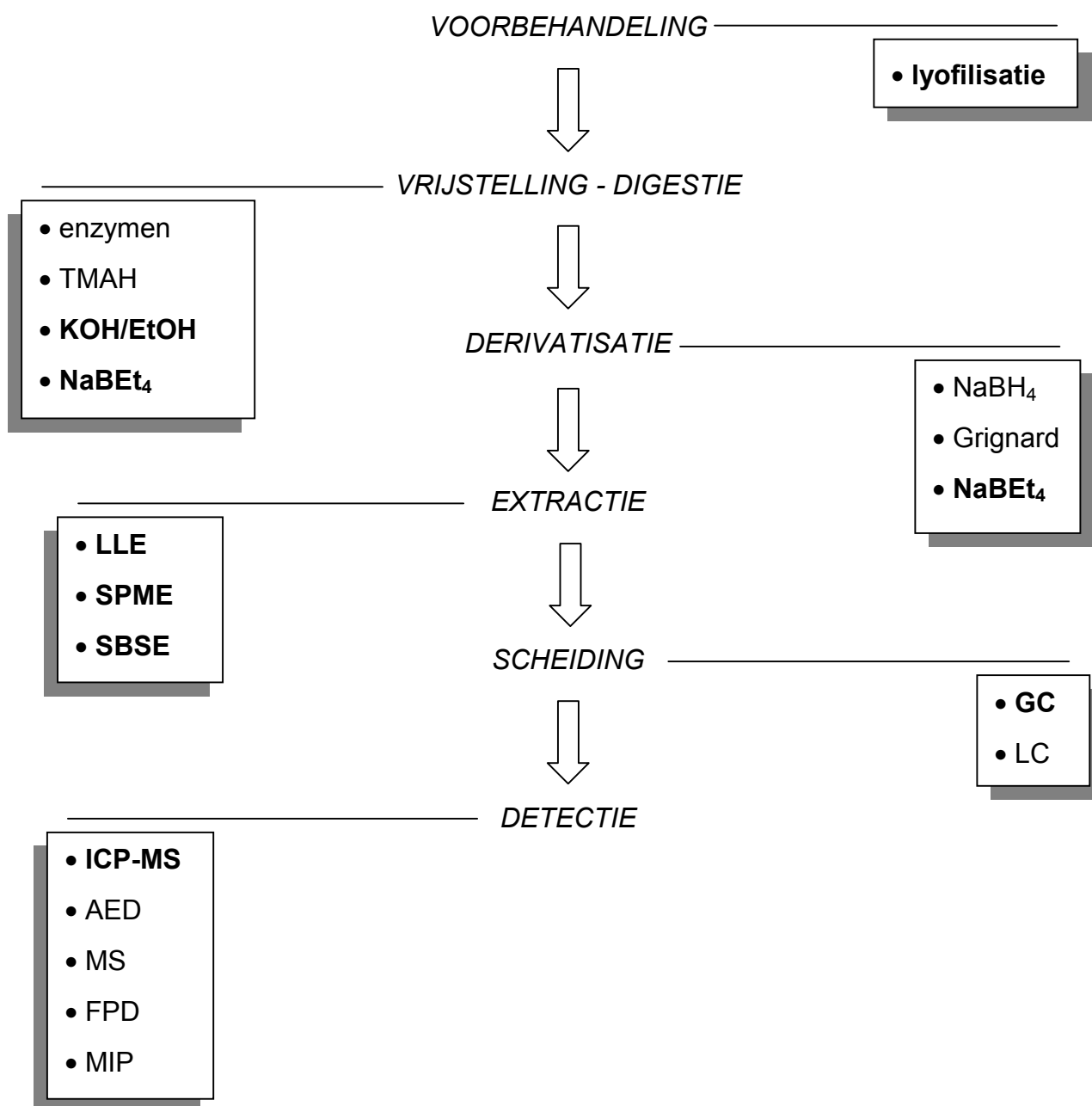
In het gebied tussen 10 en 100 mg lijkt (4b) de stelling dat er een verschil zou zijn in beïnvloeding van de derivatisatieopbrengst naargelang de verbinding weinig waarschijnlijk. Als er al een beïnvloeding is, dan is deze voor het analiet en de inwendige standaard constant.

Uit dit experiment kan men concluderen dat de optimale monstermassa afhankelijk is van de te bepalen verbinding. Voor de gebruikte omstandigheden blijkt een lagere monstermassa bijvoorbeeld duidelijk betere resultaten op te leveren voor een TPhT-bepaling. Het lijkt echter zeer waarschijnlijk dat ook de hoeveelheid NaBEt₄, de tijd en de temperatuur een grote rol zullen spelen. Een experiment op basis van 'factor design' zou waarschijnlijk het meest geschikt zijn om de instrumentele parameters te optimaliseren.

Ook het gebruik van geëthyleerde standaarden, om het effect van de derivatisatie uit te schakelen, kan voor bijkomende informatie zorgen. Het vergelijken van een dergelijk experiment met een ander experiment waarbij ionaire standaarden gebruikt werden, kan het belang van de derivatisatie in het proces in kaart brengen. Op een analoge manier kan het toevoegen van standaarden aan een 'blanco' monster de invloed van de digestie in kaart brengen.

1.5 Conclusies

Tot slot van dit hoofdstuk wordt er een schematisch overzicht van een volledige analyse voor een organisch monster gegeven. Het overzicht is ver van volledig, maar omvat de belangrijkste opties voor de verschillende stappen. De in dit werk gebruikte opties zijn **vet** gedrukt.



Hoewel verder onderzoek aangewezen is, lijkt de monstervoorbereiding die in dit werk geïntroduceerd werd -digestie zonder een apart reagens- een vrij accurate bepaling van organotinverbindingen in de betrokken matrices mogelijk te maken. Of de methode ook bruikbaar is op andere soorten organisch materiaal (b.v. planten) is momenteel nog een onbeantwoorde vraag.

De resultaten en vermoedens die uit dit deel van het onderzoek voortkwamen, wijzen op het feit dat er bij het gebruik van NaBEt₄, een zekere waakzaamheid dient in acht genomen te worden. Hoewel het reagens vele voordelen heeft ten opzichte van de omslachtige Grignard reactie, zouden er (soms) wel wat addertjes onder het gras kunnen zitten. Een grondige studie van het reactiemechanisme en de karakteristieken van het reagens lijken daarom onontbeerlijk.

Naast de derivatisatie zijn ook digestie en extractie geen onomstreden stappen. In sommige gevallen is de grens tussen 'te zachte' en 'te harde' omstandigheden zeer nauw [Adams, 2000]. Het grote verschil in karakteristieken binnen de familie van de organotinverbindingen maakt een simultane bepaling van verschillende verbindingen niet evident. Een methode die pakweg MBuT en TPhT samen, accuraat kan bepalen lijkt al zeer ambitieus. Wanneer men daaraan de voorwaarde van een brede concentratierange en verschillende matrices koppelt, kan men beter spreken van een utopie. Quevauviller, die al meerdere certificatiecampagnes betreffende organotinverbindingen begeleidde, stelde onlangs dat er momenteel geen ideale, universele extractiemethode voor alle organotinspecies is [Quevauviller, 2001].

Veel van de problemen met organotinverbindingen komen naar boven tijdens certificatiecampagnes. Hoewel significant verschillende resultaten een certificatie meestal niet in de weg staan, zijn ze een sterke aanwijzing dat het analyseproces niet 100% onder controle is. De problemen van het analytisch proces zorgen ervoor dat de ontwikkelde methodes niet wettelijk opdringbaar zijn [Adams, 2000]. Een algemene norm die de analyse van organotinverbindingen beschrijft is ver van evident.

De hoofdverbinding uit dit deel van het onderzoek, TPhT, blijkt een van de moeilijkste verbindingen van de hele familie te zijn. Vooral de beperkte stabiliteit van TPhT

onder bepaalde omstandigheden speelt hierbij een belangrijke rol. Een gevolg hiervan is dat er tot de dag van vandaag geen organisch referentiemateriaal bestaat waarin deze verbinding gecertificeerd is, niettegenstaande dat de fenyltinverbindingen vaak ook onderwerp waren van de certificatiecampagnes [Morabito, 1998]. Hoewel er al verschillende gecertificeerde referentiematerialen op de markt waren voor butyltinverbindingen, werden de drie fenyltinverbindingen pas zeer recent voor de eerste keer gecertificeerd (BCR 646, zoetwatersediment) [Quevauviller, 2001].

1.6 Referenties hoofdstuk 7

•	Adams, 2000	Adams F en Slaets S, TRAC, 2000 , 19, 80-85
•	Ashby, 1989	Ashby JR en Craig PJ, SCI TOTAL ENVIRON, 1989 , 78, 219-232
•	Cai, 1994	Cai Y, Rapsomanikis S en Andreae MO, TALANTA, 1994 , 41, 589-594
•	Ceulemans, 1993	Ceulemans M, Lobinski R, Dirkx WMR en Adams FC, FRESEN J ANAL CHEM, 1993 , 347, 256-262
•	Ceulemans, 1994	Ceulemans M, Witte C, Lobinski R en Adams FC, APPL ORGANOMET CHEM, 1994 , 8, 451-461
•	Crnoja, 2001	Crnoja M, Haberhauer-Troyer C, Rosenberg E en Grasserbauer M, J ANAL AT SPECTROM, 2001 , 16, 1160-1166
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, doctoraatsproefschrift, 1998 , Universiteit Gent
•	De Smaele, 1998	De Smaele T, Moens L, Dams R, Sandra P, Van der Eycken J en Vandyck J, J CHROMATOGR A, 1998 , 793, 99-106
•	Devos, 2001	Devos C, ongepubliceerde data, 2001
•	Feldmann, 1992	Feldmann BJ, Mogadeddi H en Osterloh JD, J CHROMATOGR, 1992 , 594, 275-282
•	Fischer, 1993	Fischer R, Rapsomanikis S en Andreae MO, ANAL CHEM, 1993 , 763-766
•	Gomez Ariza, 2000	Gomez Ariza JL, Morales E, Sanchez-Rodas D en Giraldez I, TRAC, 2000 , 19, 200-209
•	Gomez-Ariza, 2001	Gomez-Ariza JL, Morales E, Giraldez I en Sanchez-Rodas D, <i>Chapter 3 in Trace Element Speciation for Environment, Food and Health</i> , 2001 , RSC, Cambridge UK, p 62
•	Looser, 2000	Looser PW, Berg M, Fent K, Mühlemann J en Schwarzenbach RP, ANAL CHEM, 2000 , 72, 5136-5141
•	Martin, 1995	Martin FM en Donard OFX, FRESEN J ANAL CHEM, 1995 , 351, 230-236
•	Massart, 1997	Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMC, de Jong S, Lewi PJ en Smeyers-Verbeke J, <i>Handbook of Chemometrics and Qualimetrics Data Handling in Science and Technology</i> , 1997 , Vol. 20A, Elsevier, Amsterdam, Nederland

•	Morabito, 1998	Morabito R, Soldati P, de la Calle MB en Quavauviller Ph., APPL ORGANOMET CHEM, 1998 , 12, 621-634
•	Müller, 1987	Müller MD, ANAL CHEM, 1987 , 59, 617-623
•	Nagase, 1995	Nagase M, Kondo H en Hasebe K, ANALYST, 1995 , 120, 1923-1926
•	Quevauviller, 1997	Quevauviller P, Morabito R, Ebdon L, Cofino W, Muntau H en Campbell M, in <i>BCR information Report EUR 17921 EN</i> , 1997
•	Quevauviller, 2001	Quevauviller P en Ariesse F, TRAC, 2001 , 20, 207-218
•	Rapsomanikis, 1986	Rapsomanikis S, Donard OFX en Weber JH, ANAL CHEM, 1986 , 58, 35-38
•	Roosenberg, 2001	Rosenberg E en Ariesse F, <i>Chapter 2 in Trace Element Speciation for Environment, Food and Health</i> , 2001 , RSC, Cambridge UK
•	Schubert, 2000, A	Schubert P, Rosenberg E en Grasserbauer M, FRESEN J ANAL CHEM, 2000 , 366, 356-360
•	Schubert, 2000, B	Schubert P, Rosenberg E en Grasserbauer M, INT J ENVIRON ANAL CHEM, 2000 , 78, 185
•	Slaets, 1999	Slaets S, Adams F, Rodriguez Pereiro I en Lobinski R, J ANAL AT SPECTROM, 1999 , 14, 851-857
•	Sturgeon, 1989	Sturgeon RE, Willie SN en Berman SS, ANAL CHEM, 1989 , 61, 1867-1869
•	Szpunar-Lobinska, 1993	Szpunar-Lobinska J, Ceulemans M, Lobinski R en Adams FC, ANAL CHIM ACTA, 1993 , 278, 99-113
•	Yamanaka, 2000	Yamanaka M en Donard OFX, Agilent Technologies Application Note, Agilent Technologies, Inc., 2000 , http://www.chem.agilent.com

Hoofdstuk



STIR BAR AND HEADSPACE SORPTIVE EXTRACTION (SBSE & HSSE)

*Give a man a fish, and he can eat for a day. But teach a man how to fish,
and he'll be dead of mercury poisoning inside of three years ... (C. Haas)*

1.1 Inleiding

In dit hoofdstuk komen stir bar sorptive extraction (SBSE) en headspace sorptive extraction (HSSE) aan bod. Beide relatief nieuwe extractiemethoden steunen op hetzelfde principe als SPME: de extractie van verbindingen in een 'vloeibaar' polymeer. In het geval van SBSE bevindt de coating zich rond een magnetische roervlo en vindt de extractie plaats in de waterige fase. Bij HSSE zit de coating rond een glazen staafje (sorption stick) dat zich in de gasfase bevindt. Het belangrijkste voordeel bij SBSE en HSSE is dat de gebruikte hoeveelheid polymeer (PDMS) veel groter is dan bij SPME waardoor de gevoeligheid toeneemt. In tegenstelling tot bij SPME worden de stir bars en sorption sticks niet in een gewoon injectiesysteem gedesorbeerd maar maakt men gebruik van een thermische desorptie-eenheid, in combinatie met een koude trap.

Eerst zal de instrumentele kant van de technieken toegelicht worden. Omwille van de sterk vergelijkbare dimensies van de coating zijn de instrumentele parameters voor SBSE en HSSE zeer analoog en zullen ze ook samen behandeld worden.

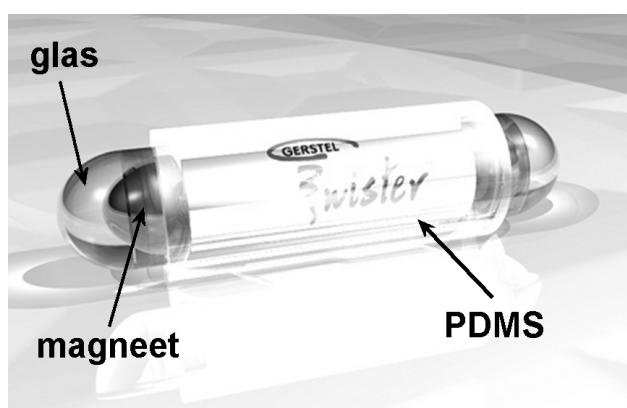
Vervolgens komt SBSE aan bod. Er wordt aandacht besteed aan de voor- en nadelen ten opzichte van SPME, de analyseparameters, het extractieprofiel en de 'figures of merit'. De juistheid van de techniek werd aangetoond door analyse van CRM 477 (mosselweefsel). Als toepassing werden Zeeuwse mosselen en water van een kleine lokale jachthaven geanalyseerd.

Er wordt afgesloten met HSSE. Hierbij ligt de nadruk vooral op de toepassing voor kwalitatieve analyse. De manier waarop kwalitatieve kalibratie kan uitgevoerd worden wordt verduidelijkt. In verschillende soorten gasmonsters werden tal van organometaalverbindingen waargenomen. Als belangrijkste toepassing werd een van de gasstromen van een waterzuiveringsinstallatie bemonsterd. In de gassen die afkomstig waren van de gistingstank (waarin de overmaat slib wordt weggewerkt) konden zeer veel organometaalverbindingen, van verschillende metalen, gedetecteerd worden.

1.2 Instrumentatie

1.2.1 Stir bars

De met PDMS gecoate stir bars die tijdens dit werk werden gebruikt, werden ontwikkeld in het Research Institute for Chromatography (R.I.C.) te Kortrijk. De stir bars bestaan uit een in glas gesmolten magnetisch staafje waarover een stuk PDMS-tubing geschoven is. De aanwezigheid van het glas is van groot belang omdat het de katalytische afbraak van het PDMS door het metaal van de magnetische staaf verhindert.



Figuur 8.1: Een close-up van een stir bar met PDMS-coating.

In de loop van het onderzoek werden de stir bars gecommmercialiseerd door de firma Gerstel (Müllheim a/d Ruhr, Duitsland). De stir bars die de firma op de markt bracht, zijn analoog aan de stir bars die in dit werk gebruikt werden (figuur 8.1).

De in dit werk gebruikte stir bars bevatten ca. 1 cm PDMS-tubing met een dikte van ca. 0,5 mm. De gebruikte PDMS-tubing heeft een dichtheid van 0,825 g/mL en bevat ca. 40% (v/v) vulmateriaal. Het 'effectief' volume PDMS op een stir bar bedraagt daarom ca. 24 μ L.

De stir bars werden steeds gebruikt voor analyse in waterig milieu. Na een bepaalde sorptietijd werden ze uit de monstervial gehaald met behulp van een gewone roervlo. Na licht deppen van de natte stir bars met Kimwipes werden ze overgebracht in een desorptiebuis van de thermische desorptieëenheid (TDS).

1.2.2 Sorption sticks

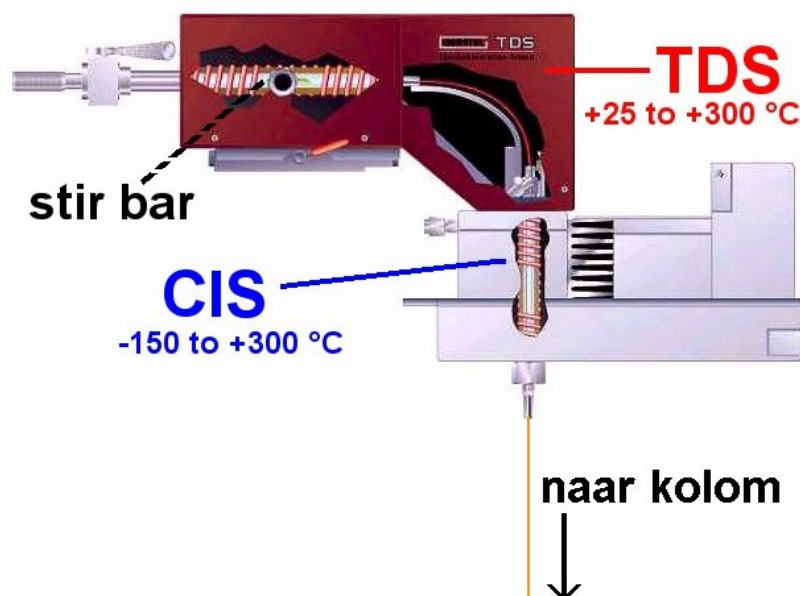
De in dit werk gebruikte sorption sticks werden zelf aangemaakt. Als substraat werden glazen staafjes met een lengte tussen 4 en 8 cm en een diameter van 2 mm gebruikt. De coating bestond, net als bij SBSE, uit een stuk PDMS-tubing. De tubing werd vooraf in stukken van 1 cm (27 mg) of 2 cm (54 mg) gesneden, die nauwkeurig werden afgewogen op een microbalans. Vervolgens werden de stukjes tubing overgebracht in een overmaat iso-octaan om ze te laten zwellen en eventuele onzuiverheden uit het PDMS te extraheren. In gezwollen toestand werd de tubing over een glazen staafje geschoven om vervolgens overnacht te drogen in een oven bij 220°C. Door het ontzwellen van de coating (verlies van het iso-octaan bij de hoge temperatuur) werd de coating rond het glazen staafje geïmmobiliseerd. Daarna werden de sorption sticks gereinigd met Kimwipes en aceton om stofdeeltjes van de coating te verwijderen. Na conditionering (zie verder) waren ze klaar voor gebruik. De sorption stick werden bewaard in gesloten proefbuizen om contaminatie tijdens de stockage zo veel mogelijk te vermijden.

1.2.3 Thermische desorptie (TDS) + koude trap (CIS)

1.2.3.1 Algemeen

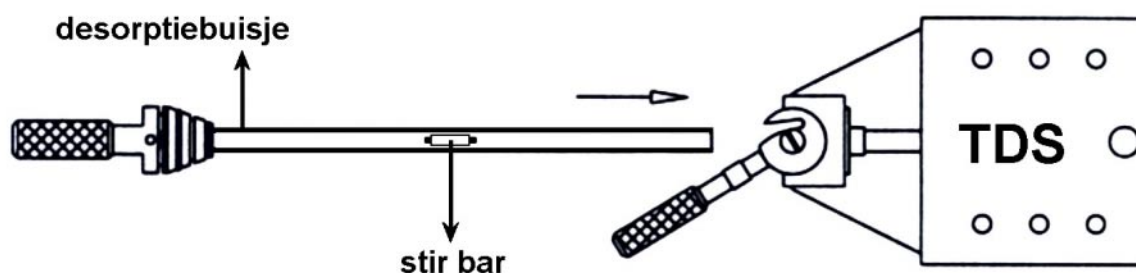
In tegenstelling tot SPME, waarvoor enkel een aangepaste injectieliner nodig is, is de desorptie van de stir bars of sorption sticks minder evident. Gezien de dimensies van de stir bars en sorption sticks gebruikt men een thermische desorptieëenheid (thermal desorption system, TDS) waarmee bijvoorbeeld ook bepaalde gepakte sorptiekolommen kunnen gedesorbeerd worden. De dikkere PDMS-coating heeft als nadeel dat de desorptie trager zal verlopen en er dus gedurende een langere periode zal moeten verwarmd worden om een zo kwantitatief mogelijke overdracht te verkrijgen (en daarmee geheugeneffecten te vermijden). Door deze tragere vrijstelling verwacht men bandverbreding in het begin van de kolom. Om dit tegen te gaan wordt er gewerkt met een koude trap (cooled injection system, CIS) die zich tussen de thermische desorptieëenheid en de kolom bevindt. Na afloop van de desorptiestap kunnen de 'gevangen' verbindingen zeer snel vrijgesteld worden door

middel van 'flash heating' van de koude trap (12°C/s). De combinatie van het gebruikte TDS en CIS is voorgesteld in figuur 8.2.



Figuur 8.2: De gebruikte combinatie van TDS en CIS van de firma Gerstel.

Om de stir bars of sorption sticks te desorberen worden ze in het midden van een leeg, glazen desorptiebuisje geplaatst (figuur 8.3). De centrale plaatsing in het buisje is vrij belangrijk omdat er een zekere temperatuurgradiënt in het TDS bestaat. Dit bleek uit een experiment waarbij filtreerpapier op verschillende plaatsen in het buisje werd gebracht. Aan het uiteinde (links op figuur 8.3) bleek het filtreerpapier ongewijzigd terwijl er in het midden een duidelijke verkoling was opgetreden.



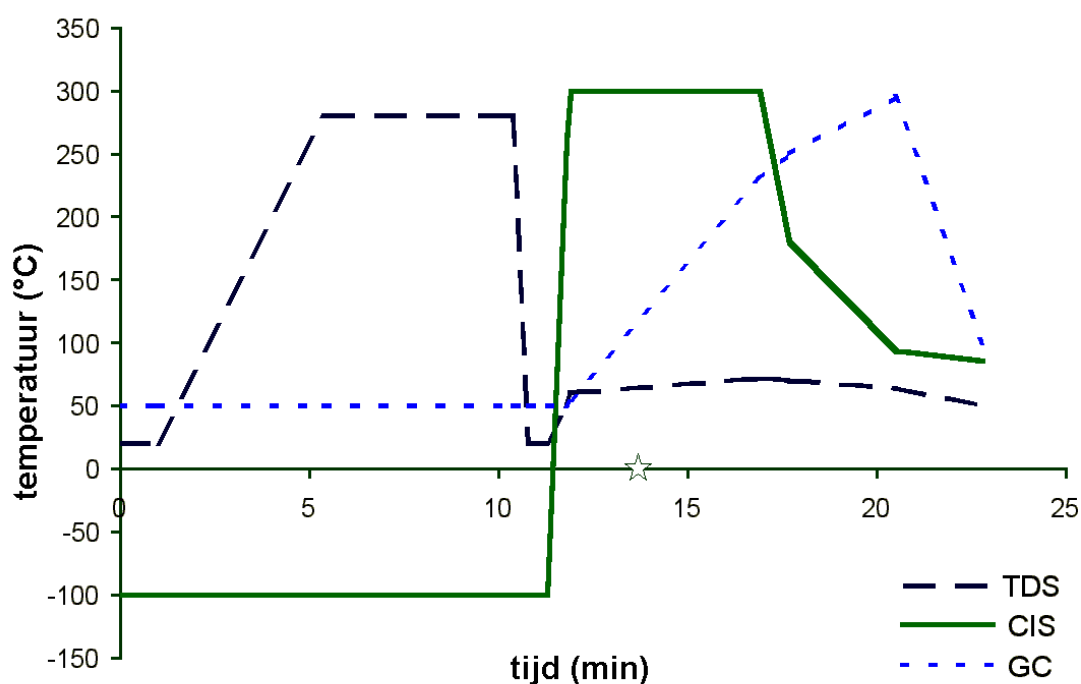
Figuur 8.3: De stir bar wordt in een desorptiebuisje geplaatst dat op zijn beurt in het TDS wordt verwarmd.



Figuur 8.4: Horizontaal aanzicht op de injectieliner die gebruikt wordt in de koude trap (CIS).

In de koude trap worden de verbindingen 'gevangen' in een glazen liner met een 'bochtige' binnenwand (figuur 8.4). De desorptieëenheid en koude trap waren van de firma Gerstel (Gerstel TDS 2 en Gerstel CIS 3). Het systeem werd enkel gebruikt in combinatie met de HP 5890 series II gaschromatograaf en het HP 4500 ICP-MS apparaat. Bij het begin van het onderzoek werd gebruik gemaakt van een aangepast resorptiesysteem van de firma Chrompack (Middelburg, Nederland). Voor een beschrijving van dit systeem wordt verwezen naar [Perez, 1999].

1.2.3.2 Temperatuurverloop



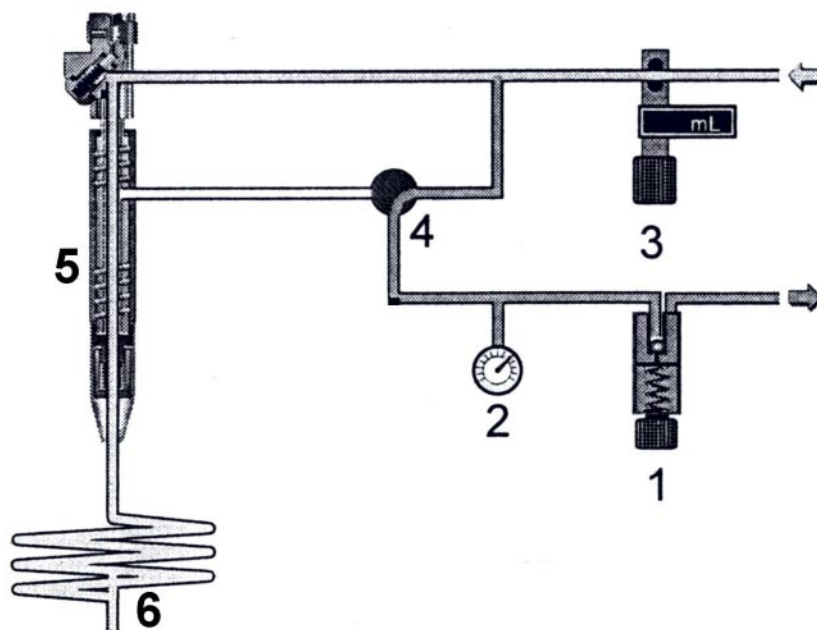
Figuur 8.5: Schematische voorstelling van de temperatuur van TDS, CIS en GC van start tot finish van een analyse (*: opening injectievalve).

Vanzelfsprekend is de temperatuur van zowel TDS als CIS van essentieel belang om een goede analietoverdracht van stir bar of sorption stick naar de kolom te garanderen. Voor de (snelle) afkoeling worden een Peltier element en vloeibare stikstof gebruikt. Figuur 8.5 toont een typisch temperatuurverloop in functie van de

tijd voor de belangrijkste componenten van het systeem. In het eerste deel van het proces worden de verbindingen van de stir bar of sorption stick, die zich in de TDS bevindt, naar het CIS overgebracht. In het tweede deel wordt een snelle analietoverdracht van het CIS naar de chromatografische kolom gevolgd door de eigenlijke scheiding.

1.2.3.3 Split / splitless modes

Het TDS-CIS systeem laat toe om zowel desorptie als injectie in split of splitless mode uit te voeren. Voor de desorptie werd er steeds in de splitless mode gewerkt. De injectie (= flash heating) gebeurde eveneens in de splitless mode. Hierbij gaat er na enkele minuten wel een elektromagnetische klep ('solenoid valve') open waardoor het systeem overschakelt naar de split mode. Door de opbouw van het systeem (figuur 8.6) en de positie van de klep blijft de flow door de kolom constant, maar is de flow door de injectieliner veel groter dan in de splitless mode.



Figuur 8.6: Schematische weergave van de opbouw van het CIS.

- 1: back pressure regeling, 2: drukmeter, 3: mass flow controller,
4: 'solenoid valve' (naar rechts: splitless mode, naar links: split mode).
5: gekoelde liner, 6: kolom.

1.2.3.4 Overzicht

Ter verduidelijking wordt er in tabel 8.1 een overzicht gegeven van de status van TDS, CIS en GC gedurende het totale analyseproces.

Tabel 8.1: Overzicht van de status van TDS, CIS en GC gedurende een volledige analyse.

Sample Mode: Standard		Flow Mode: Splitless	
	TDS	CIS	GC
Van Standby tot Ready	TDS koelt af tot starttemperatuur	CIS koelt af tot starttemperatuur	GC koelt af tot starttemperatuur
Ready	TDS blijft op starttemperatuur	blijft op starttemperatuur	blijft op starttemperatuur
Start	TDS warmt op, solenoid valve is in CIS split positie		
Desorptie	TDS warmt op tot de desorptietemperatuur aan de geprogrammeerde snelheid en behoudt deze temperatuur tot het einde van de desorptiefase		
Einde desorptie	TDS koelt af tot starttemperatuur		
Start CIS en GC	Koeling wordt uitgeschakeld. TDS gaat naar Standby, de temperatuur zal licht stijgen	CIS start zijn temperatuur-programma. Het monster wordt overgebracht naar de capillaire kolom in de splitless mode	GC start zijn temperatuur-programma
Einde CIS run	TDS staat op Standby	CIS koelt af tot de starttemperatuur	
Einde GC run.			GC koelt af tot starttemperatuur

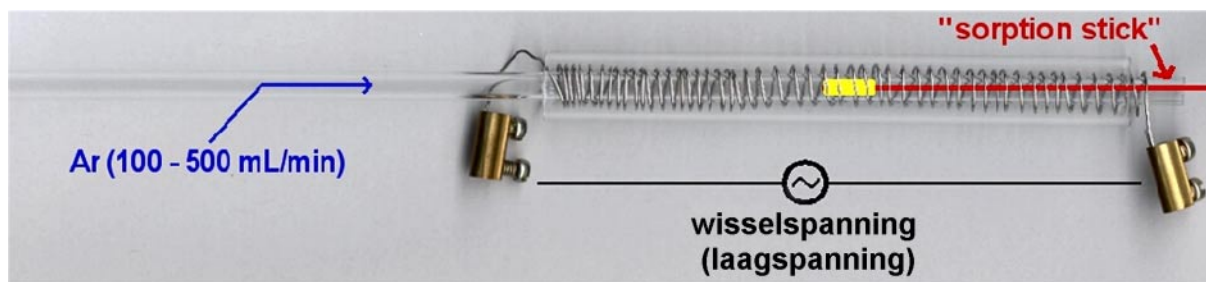
1.2.4 Losstaande conditioner

Net als bij SPME-fibers of capillaire kolommen met een PDMS-fase doet men er goed aan om nieuwe stir bars of sorption sticks vooraf te conditioneren. Het conditioneren kan men beschouwen als een langdurige desorptie en wordt gebruikt om eventuele onzuiverheden te verwijderen. Ook na gebruik van de stir bars of sorption sticks kan een extra desorptie aangewezen zijn wanneer:

1. er hoge concentraties werden gebruikt waarbij zelfs een minieme fractie analietoverdracht problemen zou kunnen vormen voor een volgende bepaling van een veel lagere concentratie
2. de stir bars of sorption sticks lange tijd niet gebruikt werden en ze tijdens hun opslagperiode mogelijk contaminaties kunnen opgepikt hebben.

Het conditioneren kan natuurlijk uitgevoerd worden in het TDS, maar om een grotere flexibiliteit te verkrijgen werd er zelf een desorptiesysteem gemaakt dat uitsluitend voor conditionering bestemd was.

Het homemade systeem (figuur 8.7) bestaat uit een dunne glazen buis die verwarmd wordt door middel van een weerstandsdraad. Om warmteverlies te verminderen is de weerstandsspiraal zelf ook omgeven door een bredere glazen buis. Aan een uiteinde van de binnenste buis wordt de stick ingebracht en aan het andere uiteinde stroomt koud Ar naar binnen dat snel wordt opgewarmd. De windingen van de spiraal werden zo geplaatst dat er een sterkere opwarming plaatsvindt aan de kant waar het koude Ar binnenstroomt. Uit veiligheidsoverweging werd voor laagspanning gekozen, hiervoor diende een transformator in het systeem te worden ingebouwd. Omdat de aangelegde spanning constant is, kan de temperatuur in de desorptiebuis geregeld worden door de gasstroom aan te passen. De gebruikte opstelling liet toe om temperaturen boven 270°C te bekomen bij relatief hoge gassnelheden tot 0,5 L/min. In vergelijking met de 100 mL/min die meestal wordt toegepast in het echte TDS zal de hogere gassnelheid een snellere desorptie mogelijk maken.



Figuur 8.7: Een foto van het homemade desorptiesysteem.

1.3 Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

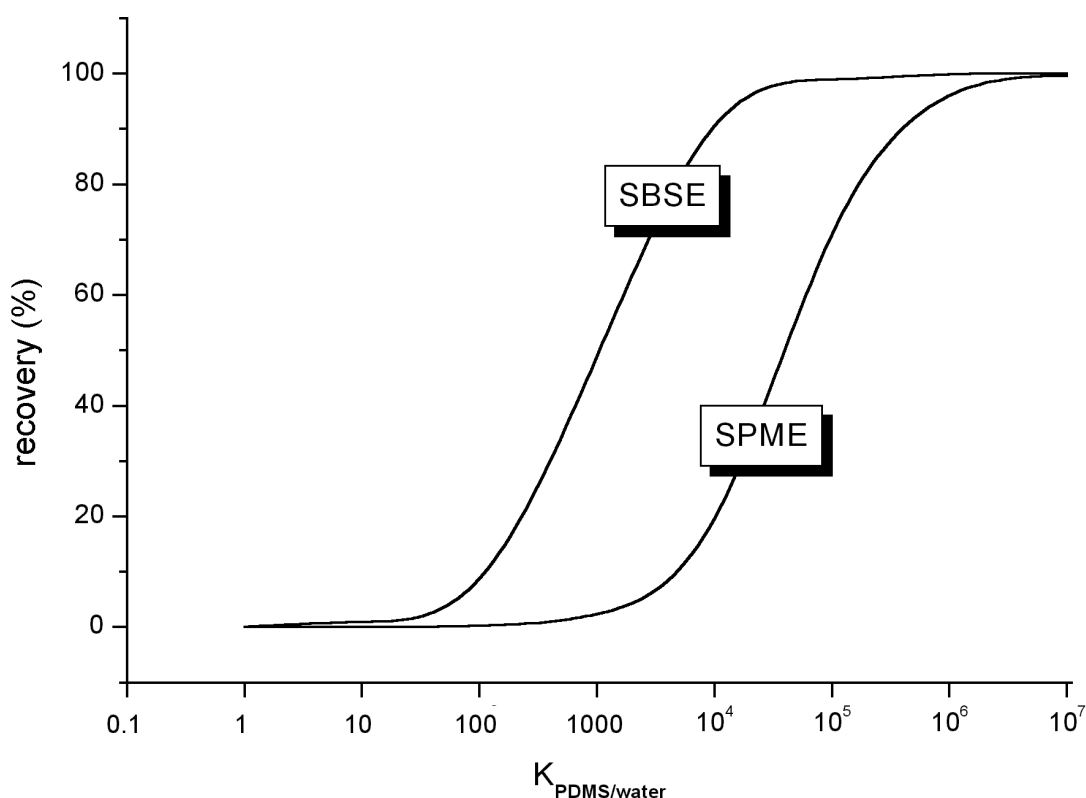
1.3.1 Historiek

Stir bar sorptive extraction (SBSE) is een techniek die vrij recent door Baltussen et al. werd geïntroduceerd [Baltussen, 1999]. Het werken met grote hoeveelheden PDMS bestond reeds onder de vorm van gum phase extraction (GPE) waarbij men gebruik maakt van met PDMS-korrels gevulde kolommen (packed PDMS beds) [Baltussen, 1997]. Vooral voor gasvormige monsters bleek deze techniek uitstekende resultaten op te leveren. Het nadeel van deze methode zat hem in het feit dat bij de analyse van waterige monsters de kolom vooraf gedroogd dient te worden alvorens de desorptie te starten. Bij dit droogproces kan er partieel of zelfs volledig verlies van relatief vluchtige verbindingen optreden. Bovendien bestaat de kans dat 'vuile' monsters de prestaties van de kolom nadelig gaan beïnvloeden.

De introductie van SBSE kan gezien worden als een combinatie van aanreiking in de orde van GPE met een gebruiksgemak dat in de buurt komt van dat van SPME. In dit werk wordt er enkel van SBSE gesproken wanneer men te maken heeft met waterige monsters. Hoewel de stir bars ook kunnen gebruikt worden voor analyse van de gasfase, spreekt men in dat geval beter van headspace sorptive extractie (HSSE, zie verder).

1.3.2 SBSE vs. SPME

Gezien de aard van de techniek lijkt het evident om een vergelijking met direct SPME te maken. Intrinsiek verschillen de twee technieken enkel door de hoeveelheid en dikte van de gebruikte PDMS-laag. In dit werk werd gebruik gemaakt van stir bars die ongeveer 40 keer meer PDMS bevatten dan een 100 μm PDMS-fiber. Wat betreft de theoretische beschouwing kan men identiek dezelfde redeneringen maken als voor SPME (zie hoofdstuk 6). Indien men een evenwichtssituatie beschouwd, dan blijkt de recovery (= hoeveelheid in stir bar / oorspronkelijke hoeveelheid in monster) afhankelijk te zijn van de verdelingsconstante K en de faseverhouding β ($= V_{\text{monster}} / V_{\text{PDMS}}$). Het verschil in recovery tussen SPME en SBSE voor een 25-mL monster is voorgesteld in figuur 8.8. Zoals verwacht is er voor verbindingen met een zeer lage of een zeer hoge affiniteit voor PDMS weinig verschil omdat de extractie voor beide technieken nihil, respectievelijk volledig is. Vele organometaalverbindingen hebben echter een K -waarde in het middengebied waar het voordeel van SBSE groot kan zijn.



Figuur 8.8: Recovery in functie van $K_{\text{PDMS/water}}$ voor SBSE en SPME bij evenwicht voor een 25-mL monster.

Net als bij SPME mag men hier het kinetisch aspect niet uit het oog verliezen. Door de dikkere PDMS-laag zal evenwichtsinstelling trager of hooguit even snel zijn als bij SPME. Wanneer diffusie in de PDMS-laag de snelheidsbepalende stap is, kan men een duidelijk snelheidsvoordeel voor SPME verwachten. Maar zelfs indien dit proces niet snelheidsbepalend is, dan nog kan men verwachten dat SPME sneller is, omdat er doorgaans minder verbindingen naar het PDMS moeten getransporteerd worden. Hier kan echter, net als bij SPME, de belangrijke opmerking gemaakt worden dat kwantitatieve analyse ook mogelijk is vooraleer het evenwicht is ingetreden.

De kinetische overwegingen die gelden voor het sorptieproces, zullen zelfs in grotere mate gelden voor het desorptieproces. Omdat desorptie gebeurt in een continue gasstroom zal de diffusiesnelheid in het PDMS hierbij van groter belang zijn. Een direct gevolg van dit alles is dat desorptie bij SBSE langer zal duren. Hierdoor is het ook aangewezen om met een CIS te werken om relatief smalle injectiebanden op de kolom te garanderen. De desorptietijden die gebruikt worden voor SBSE bevinden zich in de orde van 5 tot 15 minuten. Voor de meeste verbindingen blijkt dit voldoende om de overgrote fractie vrij te stellen. De kleine fractie die achterblijft zou evenwel voor problemen kunnen zorgen bij volgende analyses. Voor zover ons bekend werd er tot op heden nog geen echt grondig onderzoek uitgevoerd naar de mate van analietoverdracht bij SBSE. Hoewel Baltussen rapporteerde dat de stir bars tot 100 keer konden hergebruikt worden, gaf hij toch het advies om de stir bars slechts één keer te gebruiken om contaminatie door analietoverdracht te vermijden [Baltussen, 2000].

In tegenstelling tot SPME, waarvoor een heel assortiment coatings beschikbaar is, zijn de stir bars momenteel enkel met een 100%-PDMS-coating beschikbaar. Dit gegeven heeft natuurlijk alles te maken met de commerciële doorbraak die SPME enkele jaren geleden heeft gekend. Indien SBSE een vergelijkbare doorbraak zou kennen lijkt het logisch dat ook stir bars met andere coatings geproduceerd zullen worden.

Tabel 8.2: Vergelijking tussen SPME en SBSE voor enkele belangrijke analytische criteria.

	SPME	SBSE
Aanpassing aan GC	+	-
Gevoeligheid	+/-	++
Analietoverdracht	+	-
Reproduceerbaarheid	+	+/-
Beschikbare fasen	++	-
Desorptietijd	+	+/-
Snelheid van evenwichtsinstelling	+	+/-

In tabel 8.2 wordt voor enkele belangrijke analytische criteria de vergelijking tussen SPME en SBSE gemaakt (waarbij er gebruik werd gemaakt van enkele vaststellingen die verder in dit hoofdstuk volgen). De belangrijkste conclusie uit de tabel is dat het enige, maar wel zeer belangrijke, voordeel van SBSE over SPME de gevoeligheid is.

1.3.3 Instrumentele en analytische parameters

Net als bij SPME werd de optimalisatie voor SBSE toegespitst op TPhT. Voor bepalingen die specifiek op deze verbinding gericht waren werd een buffer met pH 8-9 gebruikt. Bij bepalingen waar ook butyltinverbindingen een rol speelden werd een buffer met pH 4-5 gebruikt. De monsters werden in hetzelfde soort vials gebracht als bij de SPME-analyses.

Voor TDS en CIS werden standaardparameterinstellingen gebruikt. Deze zijn weergegeven in tabel 8.3. Als draaggas werd voor He (al dan niet gedopeerd met Xe voor de ICP-MS optimalisatie) gekozen. Het gebruik van waterstof is niet aangewezen omdat de zeer snelle opwarming in de CIS ('flash heating') bepaalde veiligheidsrisico's met zich zou kunnen meebrengen. Voor opwarming en afkoeling werd er meestal gebruik gemaakt van de hoogst mogelijke temperatuur die PDMS toelaat (300°C) en de laagst mogelijke temperatuur die met de CIS bereikbaar was (-

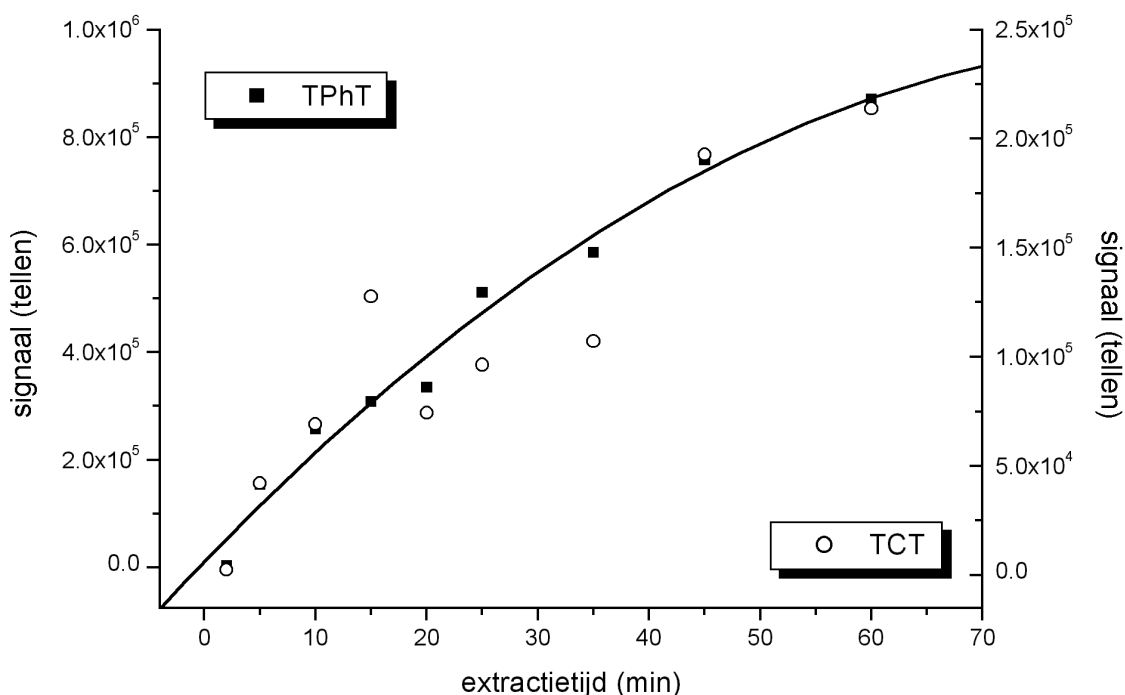
150°C). Uit het werk van Perez [Perez, 1999] bleek dat vooral de desorptietijd van belang was om analietoverdracht te vermijden.

Tabel 8.3: Gebruikte parameterinstellingen voor CIS en TDS.

TDS	
Initiële temperatuur	20°C
Initiële tijd	1 min
Opwarmingssnelheid	60°C/min
Eindtemperatuur	300°C
Eindtijd	10 min
Setting	standard + splitless
CIS	
Initiële temperatuur	- 150°C
Initiële tijd	0,5 min
Opwarmingssnelheid	12°C/s
Eindtemperatuur	300°C
Eindtijd	7 min
Algemeen	
Gas	He (Xe)
Druk	30 psi
Flow	100 mL/min
Valve open	2,5 min

De eigenlijke sorptie werd steeds uitgevoerd bij kamertemperatuur. In tegenstelling tot SPME is werken bij hoge temperatuur praktisch moeilijk uitvoerbaar omdat de vial dient geopend te worden om de stir bar toe te voegen (bij SPME kan de vial vooraf op temperatuur gebracht worden waarna de SPME-naald door het septum geduwd wordt). Daarbij komt nog dat de extractie in de vloeibare fase wordt uitgevoerd waar een temperatuursverhoging een kleiner effect zal hebben dan bij een headspace

extractie. De invloed van de sorptietijd werd onderzocht voor TPhT en TCT. Het resultaat van het experiment is voorgesteld in figuur 8.9. Daaruit bleek dat evenwichtsinstelling meer dan één uur zou duren.



Figuur 8.9: Signaal in functie van extractietijd voor ca. 100 pg/L TPhT en TCT bij sorptie door middel van SBSE (curve= fit voor TPhT).

Op een analoge manier als voor SPME werd een fit uitgevoerd op basis van vergelijking (4) uit hoofdstuk 6. Voor TPhT werd een $t_{95\%}$ -waarde van 171 min berekend, n^∞ bedroeg $1,35 \cdot 10^6$ en voor de a-waarde werd 0,01748 gevonden. De spreiding op de datapunten van TCT was te groot om een betrouwbare fit te bekomen. Op basis van de grafiek kan men echter een met TPhT vergelijkbaar gedrag verwachten. Het vergelijken van deze waarden met de waarden die voor SPME, met een dunnere PDMS-laag, gevonden werden is niet evident. Bij SPME werd extractie bij hogere temperatuur en uit de gasfase uitgevoerd. Deze parameters kunnen net als de dikte van de PDMS-laag een grote invloed op de kinetiek hebben.

Voor reële toepassingen werd meestal een extractietijd van ongeveer 15 minuten gebruikt om een optimale 'sample throughput' te verkrijgen.

1.3.4 'Figures of merit'

1.3.4.1 Detectielimiet

De detectielimiet voor TPhT werd berekend op basis van 10 blanco's. Voor dit experiment werden nieuwe stir bars gebruikt om effecten van analietoverdracht uit te schakelen. De berekening werd op een analoge manier als bij SPME uitgevoerd. Voor verduidelijking van de begrippen 'instrumentele' en 'procedure' LOD wordt er verwezen naar hoofdstuk 6. Voor 15 minuten extractie van een 40-mL monsteroplossing werden volgende LOD's bekomen:

• TPhT Instrumentele LOD:

$$\text{LOD}_a^{\text{instr}} = 10 \text{ fg/L (in oplossing)}$$

of

$$\text{LOD}_a^{\text{instr}} = 0,4 \text{ fg (absoluut)}$$

• TPhT Procedure LOD:

$$\text{LOD}_a^{\text{proc}} = 100 \text{ fg/L (in oplossing)}$$

of

$$\text{LOD}_a^{\text{proc}} = 4 \text{ fg (absoluut)}$$

Het verschil met de LOD's voor SPME (ongeveer 3 grootteorden) is veel groter dan verwacht en kan niet enkel verklaard worden door een grotere extractieopbrengst. Volgende aspecten zullen/kunnen mee aan de oorzaak gelegen hebben:

1. de hogere gevoeligheid en lagere achtergrond van de HP 4500 ICP-MS
2. een 50% langere extractietijd
3. een andere transferlijn met andere achtergrondkarakteristieken

4. een chromatografische kolom met een betere resolutie (dit heeft als voordeel dat de grenzen van zeer lage signalen, zoals bij de blanco's, veel beter afgebakend kunnen worden waardoor men een lagere spreiding kan verwachten)
5. andere derivatisatieomstandigheden (temperatuur)
6. het gebruik van nieuwe stir bars

Voor zover ons bekend, zijn deze LOD's de laagste die ooit gerapporteerd werden voor organotinverbindingen. Enkel Tao et al. rapporteerden een instrumentele LOD van eveneens 10 fg/L. De onderzoekers maakten daarbij gebruik van LLE in combinatie met 'large volume injection' GC-ICP-MS. De lage LOD in hun werk is te wijten aan een sterke preconcentratie bij de LLE (1000 keer), een injectievolume van 100 µL en een hogere gevoeligheid van de ICP-MS door gebruik van een 'shielded torch' in standaardomstandigheden [Tao, 1999].

Het mag duidelijk zijn dat de werkelijke ('procedure') LOD bij dit soort gevoelige technieken vrijwel uitsluitend zal bepaald worden door de zuiverheid van de reagentia, analietoverdracht en contaminatie.

1.3.4.2 Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid werd bepaald op 10 standaardoplossingen waarin zowel TPhT als TCT (inwendige standaard) aanwezig waren. Tijdens het experiment werd voor alle extracties dezelfde stir bar gebruikt, het verschil in capaciteit tussen verschillende stir bars is hier dus niet inbegrepen in de herhaalbaarheid.

De herhaalbaarheid voor een oplossing met ca. 100 pg/L zonder correctie door TCT bedroeg:

$$\text{RSD} = 35\%$$

En met gebruik van TCT:

$$\text{RSD} = 12\%$$

Uit deze waarden blijkt nogmaals het nut van een inwendige standaard. De waarde die bekomen werd zonder gebruik van TCT lijkt vrij hoog. Een dergelijke spreiding is echter niet uitzonderlijk wanneer men beseft dat de gebruikte concentraties zeer laag waren, dat er bovendien nog een derivatisatie aan te pas kwam, en dat de extractie niet bij evenwicht werd uitgevoerd (en er dus in het hellend deel van de sorptiecurve werd gewerkt). In de literatuur zijn er, voor zover ons bekend, nog niet zoveel gegevens beschikbaar over de herhaalbaarheid van SBSE. Baltussen rapporteerde een RSD van 6% (n=6) voor SBSE op endosulfan in de µg/L-concentratierange [Baltussen, 2000]. Ook Tienpont vond een RSD van 6% (n=6) voor een analyse die zich eveneens in de µg/L-range bevond [Tienpont, 2002]. De laagste RSD's voor SBSE werd gerapporteerd door Ochiai die voor bepaalde verbindingen een RSD < 1% vond [Ochiai, 2001]. Voor de analyse van PAK's in de ng/L-range vond Popp RSD's tussen 5 en 14% [Popp, 2001]. Vrijwel al deze gerapporteerde RSD's hadden betrekking op analyses die bij evenwicht werden uitgevoerd en waaraan geen derivatisatie te pas kwam.

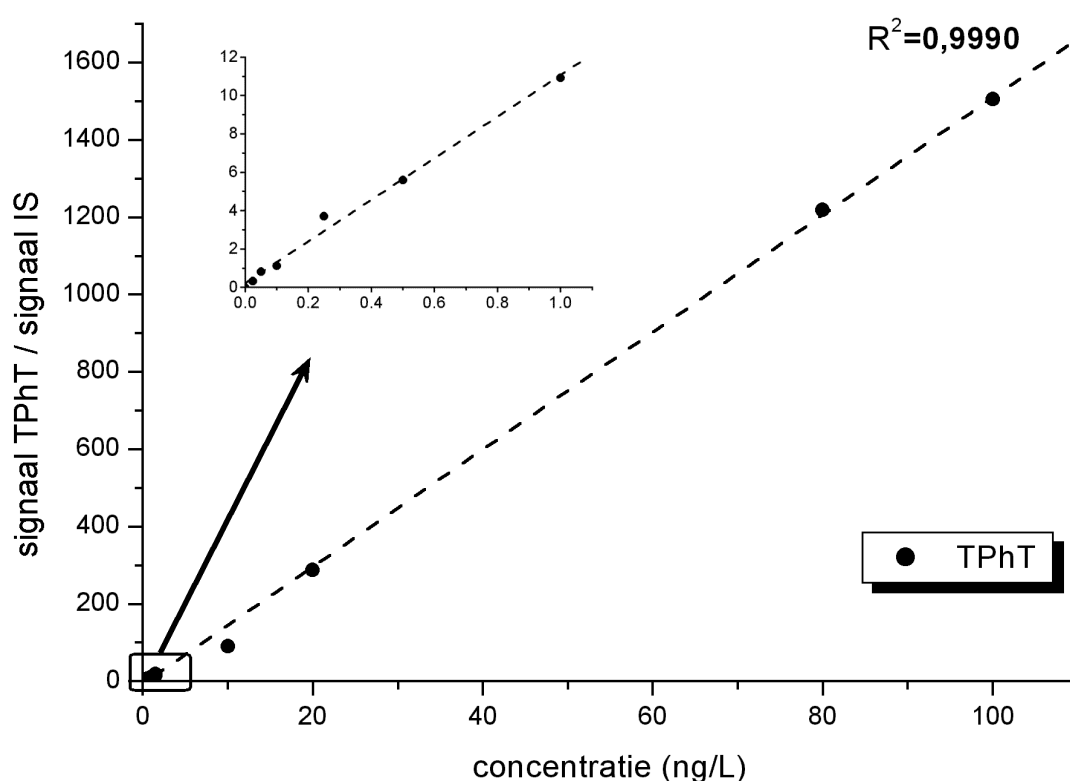
Zoals aangegeven, werden alle extracties hier uitgevoerd met dezelfde stir bar. Een indicatie van de stir bar tot stir bar herhaalbaarheid kan gevonden worden in een 'application note' van de firma Gerstel [Heiden, 2001]. Daarin worden, voor 15 extracties van standaardoplossingen op het 100 ng/L-niveau, RSD's gerapporteerd tussen 4% en 28%. Vermoedelijk is de laagste waarde een indicatie voor de stir bar tot stir bar herhaalbaarheid (want de spreiding op het volume PDMS op de stir bars kan als een onderlimiet op de totale spreiding beschouwd worden).

Net als bij SPME kan er hier opgemerkt worden dat de RSD's berekend zijn onder ideale omstandigheden. Bij reële monsters zullen matrixeffecten vaak tot een grotere spreiding op de resultaten leiden.

1.3.4.3 Lineair dynamisch bereik

De lineariteit van de techniek voor een TPhT-bepaling werd gecontroleerd aan de hand van standaardoplossingen met concentraties tussen 25 pg/L en 100 ng/L. Aan alle oplossingen werd een constante concentratie van 250 pg/L TCT toegevoegd. Om de automatische uitschakeling van de detector bij een hoge telcadans te

vermijden, werd de detectorspanning voor oplossingen met meer dan 1 ng/L TPhT met 150 V verminderd. Het gebruik van de inwendige standaard liet toe om voor deze desoptimalisatie te corrigeren. Uit figuur 8.10 blijkt dat er op deze manier een lineair verband over het ganse concentratiegebied werd gevonden. Er waren echter onvoldoende replicaatmetingen om een zinvolle lack-of-fit toets uit te voeren. Hoewel er geen hogere concentraties gemeten werden, kan men toch verwachten dat het lineair gebied zich nog verder zal uitstrekken. Voor SPME, waarbij een veel kleinere hoeveelheid PDMS gebruikt wordt, blijkt het lineair gebied zich namelijk minstens tot in de µg/L-range uit te strekken.



Figuur 8.10: Kalibratiecurve van TPhT voor SBSE (15 min).

De desoptimalisatie bij hoge concentraties kan natuurlijk ook worden uitgevoerd door aanpassen van de lenzen, registratie van een minder abundant isotoop van tin of door overschakeling op analoge mode. In tegenstelling tot bij de Elan 5000, waar een aanpassing binnen een meting enkel op manuele manier kan, beschikt de HP 4500 over een 'time program' mode. Hiermee kan men op een bepaald tijdstip binnen de meting een desoptimalisatie programmeren.

1.3.5 Analyse van CRM 477

Om de juistheid van de techniek aan te tonen werden TBuT en TPhT bepaald in CRM 477. Omwille van de mogelijke afbraak die men verwachtte [Morabito, 1998], werd er vooraf beslist om de gevonden concentratie niet enkel met de indicatieve waarde te vergelijken. Het referentiemateriaal werd daarom ook quasi gelijktijdig geanalyseerd met behulp van een klassieke LLE met iso-octaan, waarbij een gelijkaardige monstervoorbereiding werd gebruikt. In beide gevallen werd een digestie op basis van KOH/EtOH uitgevoerd. De concentraties werden telkens berekend op basis van enkelvoudige standaardadditie waarbij er zowel voor het 'monster' als voor het 'monster + spike' vijf herhalingen werden uitgevoerd. De resultaten en de indicatieve waarde zijn weergegeven in tabel 8.4.

Tabel 8.4: Organotinconcentraties \pm 95% confidentie-interval ($\mu\text{g/g}$, als kation, in droog materiaal) in CRM 477 berekend op basis van standaardadditie.

	TBuT	TPhT
Gecertificeerde concentratie* (\pm spreiding op het gemiddelde)	$2,20 \pm 0,19$	$1,58 \pm 0,31$
Gecertificeerde concentratie* (\pm spreiding op individuele waarden)	$2,20 \pm 0,77$	$1,58 \pm 0,98$
SBSE	$1,47 \pm 0,75$	$1,17 \pm 0,36$
LLE	$1,50 \pm 0,52$	$0,96 \pm 39$

*Voor TPhT is de indicatieve waarde gegeven.

Voor de interpretatie van een dergelijke tabel wordt verwezen naar hoofdstuk 7. Uit de tabel blijkt dat alle bekomen resultaten in goede overeenkomst zijn met de datasets die horen bij de gecertificeerde (TBuT) en de indicatieve (TPhT) waarde.

1.3.6 Toepassing

1.3.6.1 Voorbeschouwing: kwantitatief vs. kwalitatief

Zoals reeds eerder werd vermeld, ligt het werk van Baltussen et al. aan de basis van SBSE. Een groot aantal van de tot op heden gepubliceerde toepassingen van deze recente techniek zijn dan ook van zijn hand. Baltussen toonde in zijn doctoraatsproefschrift [Baltussen, 2000] aan dat SBSE voor veel verschillende toepassingen in tal van matrices inzetbaar was. Zo werd SBSE onder andere toegepast bij de analyse van koffie, thee, yoghurt, oppervlaktewater, wijn, fruitsap, bier. Het overgrote deel van de toepassingen bleef echter beperkt tot de kwalitatieve analyse. Dit is begrijpelijk omdat de hoge gevoeligheid van SBSE het mogelijk maakt om de aanwezigheid van tal van contaminaties zichtbaar te maken, en dit zelfs bij zeer lage concentraties ($< \text{ppt}$). Het uitvoeren van een kwantitatieve analyse met SBSE is -net als bij SPME- minder eenvoudig dan voor LLE. De moeilijkheden kunnen veroorzaakt worden door het feit dat:

- de extractie bij evenwicht niet kwantitatief is
- de extractie bij evenwicht wel kwantitatief is, maar de tijd die hiervoor nodig is te lang is vanuit praktische overwegingen. Hierdoor zal er onder praktische omstandigheden ook geen kwantitatieve extractie zijn
- matrixcomponenten (vaak met beperkte reproduceerbaarheid) in competitie treden met de PDMS-fase voor (ad)sorptie van de analietverbindingen waardoor de extractieopbrengst lager zal zijn dan in een zuivere oplossing (waarin de opbrengst al dan niet kwantitatief zou zijn).

Een mooi voorbeeld van dit laatste punt kan ook gevonden worden in een experiment van Baltussen waarbij bleek dat de extractieopbrengst voor endosulfan in witte wijn meer dan drie keer groter is dan in rode wijn. Tienpont et al. rapporteerden ook een meer dan 10-voudige daling door matrixeffecten bij de bepaling van ftalaten in bloed [Tienpont, 2002]. In een andere studie bleek standaardadditie noodzakelijk om voor matrixeffecten te corrigeren bij de kwantificatie van enkele dicarboximide fungiciden in witte wijn [Sandra, 2001]. Ook Benijts et al. melden een matrixeffect

voor de analyse van PCBs in sperma [Benijts, 2001]. Ook in dit werk werden duidelijke indicaties voor dit matrixeffect vastgesteld (zie verder). De grote gevoeligheid voor dit soort onderdrukking zorgt ervoor dat werken zonder correctiemethode (matrix matching, inwendige standaardisatie, standaardadditie,...) zelden of nooit toepasbaar zal zijn wanneer men accurate resultaten wil bekomen.

Er valt te verwachten dat de analyse van organotinverbindingen extra gevoelig is aan matrixeffecten omdat:

- vele organotinverbindingen een lyofiel karakter hebben (of krijgen na de derivatisatie) waardoor de affiniteit voor organische matrixcomponenten vrij groot zal zijn
- de derivatisatie ook door matrixcomponenten kan beïnvloed worden
- de extractie niet bij evenwicht wordt uitgevoerd

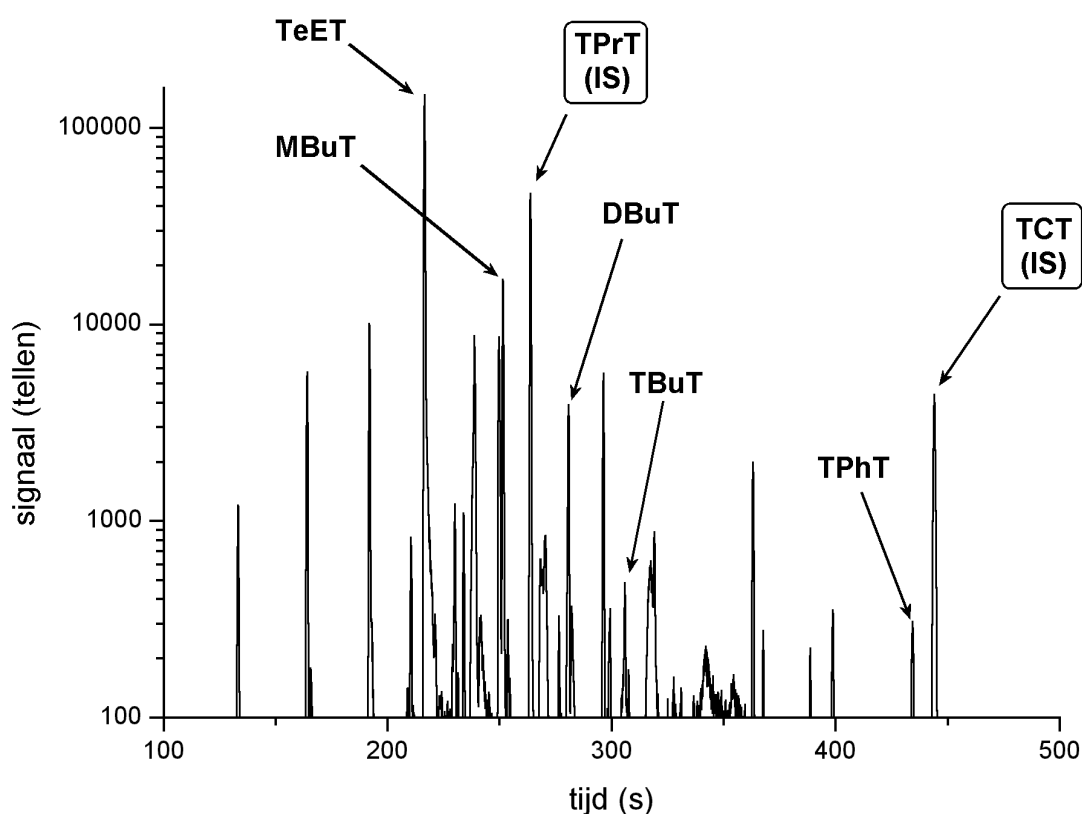
Daarom werd er voor de kwantitatieve analyse steeds gebruik gemaakt van (enkelvoudige) standaardadditie en/of inwendige standaardisatie.

1.3.6.2 Oppervlaktewater

Om de bruikbaarheid van SBSE aan te tonen werd oppervlaktewater geanalyseerd. Het watermonster werd in een glazen fles gecollecteerd nabij een sluis, in Merelbeke op de Ringvaart om Gent, waar een tiental plezierboten aangemeerd lagen. De analyse werd nog dezelfde dag uitgevoerd. 30 mL water werd gebufferd met 10 mL acetaatbuffer, TPrT en TCT werden toegevoegd als inwendige standaarden. In het chromatogram (figuur 8.11) is duidelijk zichtbaar dat er een groot aantal -meer dan 20- organotinverbindingen aanwezig waren in het water. Een aantal verbindingen kon eenvoudig geïdentificeerd worden door vergelijking van hun retentietijd met deze van de componenten in een standaardmengsel. Een groot aantal verbindingen bleef echter ongeïdentificeerd.

Deze 'vondst' vertoont een vrij grote analogie met een onderzoek van Suzuki waarbij ook meer dan 20 verschillende organotinverbindingen werden aangetroffen in een havensediment [Suzuki, 1999]. De aanwezigheid van een dergelijk groot aantal

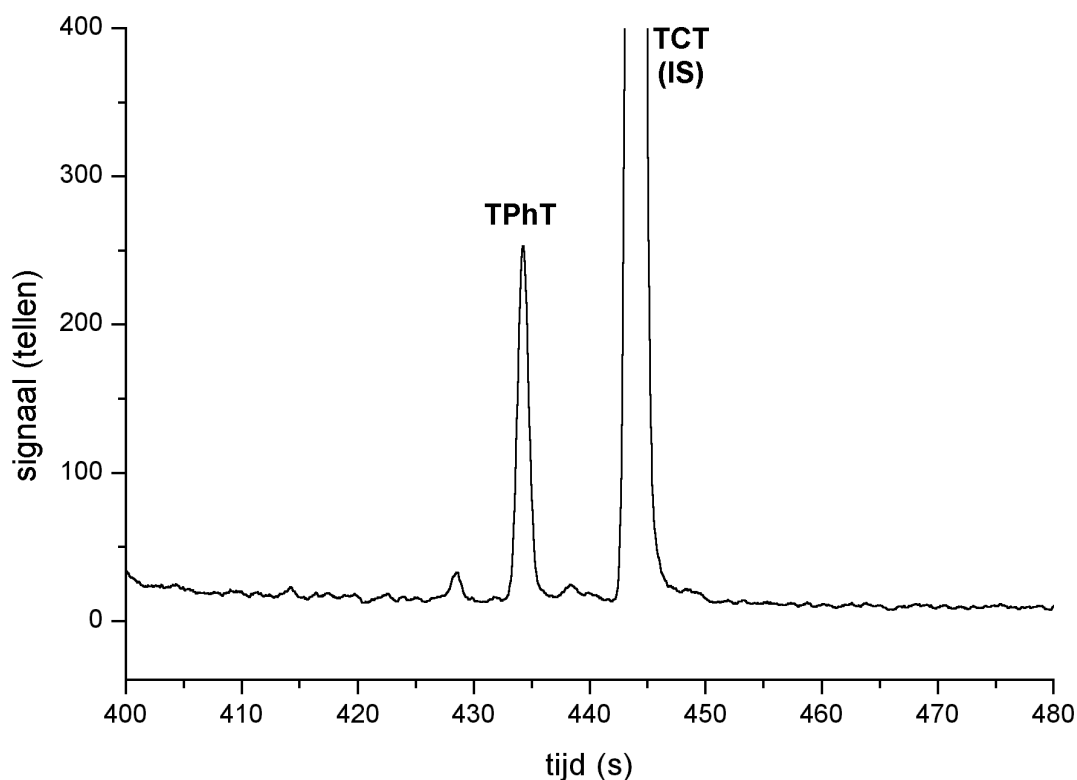
organotinverbindingen roept bepaalde vragen op. Hoewel de organotinproblematiek zich vooral richt op butyl- en fenyltinverbindingen blijkt uit deze meting dat er tal van andere verbindingen in het milieu aanwezig zijn die mogelijk ook het ecologisch evenwicht op een of andere manier kunnen verstoren. De bron van deze verbindingen achterhalen lijkt niet eenvoudig, hoewel het optreden van substitutiereacties tussen verschillende organotinverbindingen een mogelijke verklaring voor bepaalde verbindingen zou kunnen zijn.



Figuur 8.11: Chromatogram van oppervlaktewater verkregen met SBSE, TPrT en TCT als inwendige standaard (1 ng).

Voor TBuT en TPhT werd kwantificatie door middel van standaardadditie uitgevoerd. De berekende concentratie bedroeg 200 ± 50 pg/L, respectievelijk 22 ± 4 pg/L. Zoals verwacht (en gelukkigerwijs) zijn deze waarden beduidend lager dan de concentraties die door anderen in havenwaters werden gevonden. De aanwezige boten waren allemaal van het kleinere type (< dan 25m) waarop het gebruik van organotinverbindingen reeds geruime tijd verboden is. De lage concentratie TPhT (figuur 8.12) is niet echt verrassend. In de omgeving van de bemonsteringsplaats waren geen aardappelvelden waar TPhT zou kunnen gebruikt zijn en ook transport

via het water lijkt onwaarschijnlijk gezien de relatief grote afstand tot een grotere haven. Rekening houdend met de beperkte stabiliteit in het milieu en het lyofiele karakter van de verbinding is het dus begrijpelijk dat er geen hoge concentraties op de betrokken plaats en het betrokken moment aangetroffen werden.



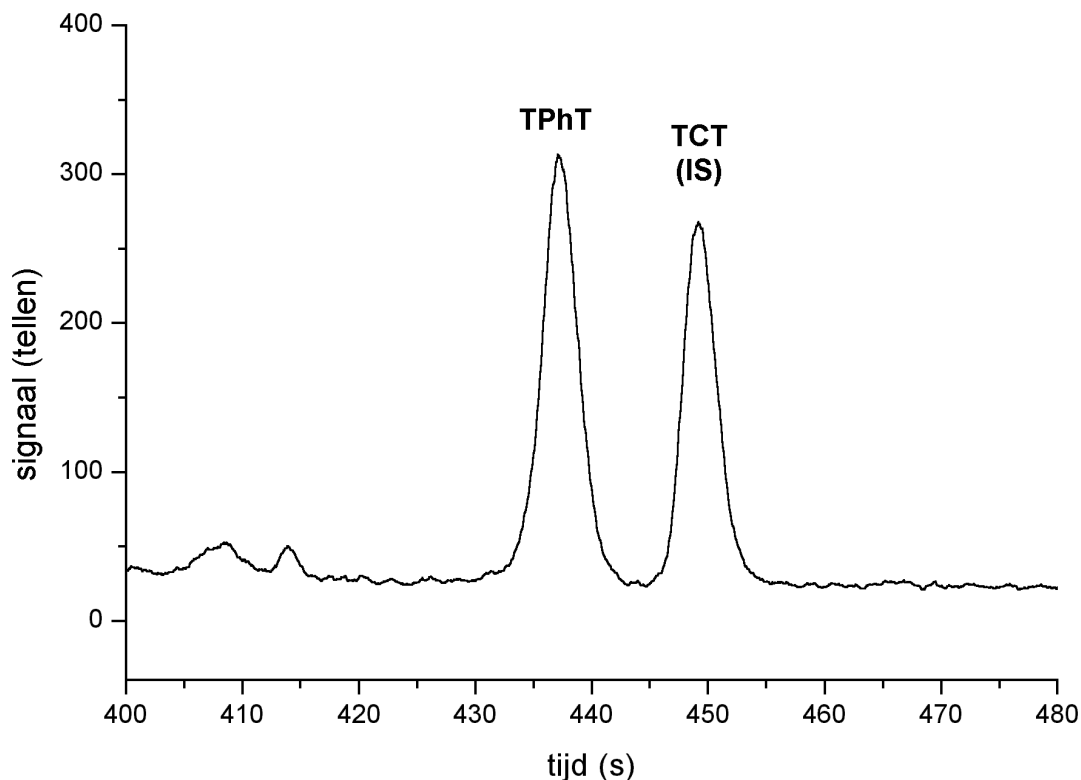
Figuur 8.12: TPhT-sigitaal in het oppervlaktewater, analyse met SBSE, TPhT-concentratie in de oplossing: ca. 17 pg/L.

De meerwaarde die SBSE voor dit soort toepassingen vormt, situeert zich op twee vlakken: de mogelijkheden tot vaststellen van de aanwezigheid van tal van onbekende organotinverbindingen in het milieu en tot kwantificatie van enkele 'bekende' verbindingen op ppq-niveau.

1.3.6.3 Verse mosselen

Net als SPME werd SBSE ook op verse mosselen toegepast. De monstervoorbereiding was analoog aan die bij SPME. Kwantificatie werd eveneens uitgevoerd met behulp van standaardadditie. In verse mosselen die de dag van de analyse werden aangekocht in een lokale supermarkt werd $1,5 \pm 0,7$ ng/g TPhT

gevonden (figuur 8.13). Wat overeenkomt met $7,3 \pm 3,5$ ng/g in de droge massa indien men hetzelfde watergehalte veronderstelt als in de mosselen die met SPME-GC-ICP-MS werden geanalyseerd.



Figuur 8.13: TPhT-sigitaal in verse mosselen, analyse met SBSE.

TPhT-concentratie in de oplossing ca. 75 ng/L.

Wanneer het chromatogram van het oppervlaktewater met het chromatogram van het mosselmonster wordt vergeleken, stelt men een groot verschil in gevoeligheid vast. De totale signaalonderdrukking voor mosselmonsters is ongeveer drie orden groter dan voor oppervlaktewater. Dit zeer groot effect is niet echt verwonderlijk omdat -zoals reeds eerder werd aangegeven- het matrixeffect zowel de extractie als de derivatisatie nadelig zal beïnvloeden. De effecten van de monstermassa bij SPME indachtig, lijkt het waarschijnlijk dat een kleinere monstermassa (dan de hier gebruikte 2 g nat product) een aanzienlijk kleiner matrixeffect opgeleverd zou hebben.

Tot slot kan er net als in voorgaand hoofdstuk opgemerkt worden dat de gevonden concentraties meer dan twee orden lager zijn dan grenswaarden die afgeleid werden

uit aanvaardbare TDI-waarden en er voor dit soort monsters waarschijnlijk geen gevaar voor de volksgezondheid is.

1.4 HeadSpace Sorptive Extraction (HSSE)

1.4.1 Historiek

Terwijl SBSE kan beschouwd worden als de ‘grote broer’ van direct SPME, kan men headspace sorptive extraction (HSSE) beschouwen als een volumineuzere variant van headspace SPME. Bij deze techniek bevindt de dikke PDMS-laag, die bij SBSE rond een roervlo zit, zich rond een glazen staaf (sorption stick). Daar waar SBSE aan zijn doorbraak begonnen lijkt te zijn, is het aantal publicaties over HSSE nog relatief beperkt. Tienpont et al. maakten gebruik van sorption sticks voor de headspace analyse van voedingsmiddelen [Tienpont, 2000] en Bicchi et al. gebruikten HSSE (gebruik makend van met PDMS gecoate stir bars) voor headspace analyse bij planten en koffie [Bicchi, 2000], [Bicchi, 2002]. Ochiai et al. maakten naast SBSE ook gebruik van HSSE om ongewenste smaak- en geurstoffen in drinkwater te bepalen [Ochiai, 2001].

Naast deze toepassingen in een gesloten systeem (headspace vial, erlenmeyer) lijkt HSSE ook interessante mogelijkheden te bieden voor kwalitatieve analyse in open systemen zoals werkplaatsen, omgevingslucht enz. Het gebruik van grote hoeveelheden PDMS werd reeds eerder toegepast bij gum phase extraction (GPE) [Baltussen, 1997]. Hierbij gaat het hem echter over een ‘actieve’ bemonsteringstechniek (waarbij lucht over de kolom wordt gezogen) die praktisch complexer is dan de ‘passieve’ bemonstering met sorption sticks die in dit werk werd toegepast.

1.4.2 Toepasbaarheid voor organometaalspeciatie

De toepasbaarheid van HSSE voor organometaalspeciatie lijkt zich vooral op twee vlakken te situeren:

1.4.2.1 Kleine gesloten systemen

In headspace vials zou HSSE op quasi dezelfde manier als headspace SPME toegepast kunnen worden. Wanneer extractie bij evenwicht uitgevoerd wordt zal de grotere hoeveelheid PDMS van de sorption sticks steeds voor een grotere absolute opbrengst zorgen. Net als bij SBSE zal de winst sterk afhankelijk zijn van de affiniteit van de verbindingen voor het PDMS ($K_{\text{PDMS/water}} \cong K_{\text{O/W}}$). Indien de extractie niet bij evenwicht wordt uitgevoerd, zal de winst in opbrengst ook bepaald worden door de relatieve snelheid van de verschillende diffusieprocessen in het systeem. Wanneer de transfer van de vloeibare naar de gasfase veel trager is dan de transfer van de gasfase naar het PDMS zal de extra hoeveelheid PDMS weinig winst in extractieopbrengst opleveren.

Vanuit praktisch standpunt zijn sorption sticks minder handig dan een SPME-systeem. Het feit dat de SPME-fiber in een naald is ingebouwd maakt het mogelijk om het PDMS in en uit de gasfase te brengen (door het doorprikken van een soort septum) zonder dat deze verstoord wordt. De dimensie van de PDMS-fase bij HSSE sluit een dergelijke methode uit zodat het systeem steeds geopend moet worden bij het inbrengen of verwijderen van de sticks. Dit zal doorgaans weinig problematisch zijn, behalve wanneer:

- er gewerkt wordt bij verhoogde temperatuur waardoor drukopbouw in de headspace ontstaat
- er een vooraf een derivatisatiereactie wordt uitgevoerd waarbij zeer vluchtige verbindingen ontstaan

Het eerste punt ligt mogelijk aan de oorzaak van de slechtere herhaalbaarheid die Ochiai rapporteerde voor HSSE bij 60°C in vergelijking met SBSE bij kamertemperatuur [Ochiai, 2001]. Hoewel deze problemen waarschijnlijk wel oplosbaar zijn mits enkele technische spitsvondigheden, is er ook nog het feit dat de sorption sticks best in combinatie met een TDS en een CIS worden gebruikt waardoor de kans klein is dat de eenvoud van SPME geëvenaard kan worden. Ondanks het potentieel van deze techniek, werd hij niet toegepast tijdens dit werk.

1.4.2.2 Open systemen

Naast het gebruik van sorption sticks in een gesloten systeem bestaat er ook de mogelijkheid om sorptie uit te voeren in open systemen (werkplaatsen, omgevingslucht,...). Het probleem in dergelijke 'ruimtes' is dat:

- het vaak zeer moeilijk of onmogelijk is om bepaalde parameters (temperatuur, concentratie, luchtvochtigheid,...) constant te houden. Zo blijkt uit eigen ervaring dat er bij bemonstering in de buitenlucht een partiële afscherming van het PDMS kan plaatsvinden door de aanwezigheid van dauwdruppels op het polymeeroppervlak. Vanzelfsprekend zal ook een temperatuursvariatie grote invloed hebben op de kinetiek en de thermodynamica van de extractie.
- vrijwel uitsluitend de vluchtige organometaalverbindingen (bijvoorbeeld tetraorganotinverbindingen) kunnen bepaald worden, terwijl er in waterig milieu een derivatisatie kan uitgevoerd worden waardoor ook de organotinzouten extraheerbaar worden. Hoewel de aanwezigheid van organotinzouten in de lucht meestal vrij klein zal zijn, werd hun aanwezigheid reeds eerder gerapporteerd [Kawata, 1993], [Mester, 2002].
- het 'bemonsterde volume' moeilijk te kennen is.

Omdat het quasi onmogelijk is om de extractieomstandigheden in open lucht constant te houden, zijn accurate kwantitatieve bepalingen met sorption sticks weinig waarschijnlijk. Daarbij komt nog dat, zelfs indien deze omstandigheden toch constant zouden zijn, kalibratie zeer moeilijk is omdat er weinig of geen gasvormige organometaalstandaarden verkrijgbaar zijn. Op basis van de respons van het detectiesysteem kan men waarschijnlijk wel beperkte uitspraken doen over relatieve concentraties tussen verschillende bemonsteringsplaatsen waarbij de extractieomstandigheden niet te veel verschiden. Een accurate kwantitatieve analyse met voldoende precisie lijkt enkel mogelijk op basis van een methode als GPE waarbij een vast volume gas over een kolom gezogen wordt. Maar zelfs in dat geval is kwantitatieve analyse ver van evident.

Ondanks het feit dat sorption sticks zich dus vrijwel uitsluitend lenen voor een kwalitatieve analyse kunnen ze toch een belangrijke bijdrage leveren in het organometaalonderzoek. Een van de belangrijkste toepassingen in dit gebied is de analyse van gassen die vrijkomen onder anaërobe (reducerende) omstandigheden. Hierbij wordt er vooral gedacht aan stortplaatsen, rioleringsinstallaties en waterzuiveringsstations.

Bepaling van organometaalverbindingen in gassen afkomstig van anaërobe milieus

In het eerste hoofdstuk kwam de productie van vluchtige organotinverbindingen (hydrides, methylderivaten) reeds kort aan bod. Naast deze familie kunnen natuurlijk ook andere organometaalverbindingen onder anaërobe omstandigheden ontstaan. Tal van publicaties handelen over de aanwezigheid van verschillende organometaalverbindingen. Ondanks het feit dat vooral de groep rond Feldmann et al. reeds vele jaren met dit onderwerp bezig is, werd het grootste aantal soorten organometaalverbindingen aangetroffen door Grüter et al. Met behulp van lage-temperatuur-GC, gekoppeld aan ICP-MS, vonden ze organometaalverbindingen van Ge, As, Se, Sn, Sb, Te, Hg, Pb en Bi, [Grüter, 2000].

De aanwezigheid van deze verbindingen is grotendeels te wijten aan biologische processen die onder deze omstandigheden plaatsvinden. Zo is er bekend dat *Methanobacterium formicicum*, een bacterie die typisch is voor rioolslib, anorganisch arseen [Wickenheiser, 1998] en bismut [Michalke, 2002] kan omzetten naar vluchtige organometaalderivaten (bijvoorbeeld Me_3As , Me_2AsH , MeAsH_2 , Me_3Bi , Me_2BiH en MeBiH_2). Een ander soort bacterie, *Pseudomonas fluorescens*, blijkt in staat anorganisch telluur om te zetten tot Me_2Te [Basnayake, 2001]. Naast bacteriën blijken ook bepaalde schimmels vluchtige organometaalverbindingen te kunnen produceren. Zo bleek *Scopulariopsis brevicaulis* in staat antimoon om te zetten tot vluchtige organoantimoonverbindingen [Andrewes, 1998].

Bij de meeste onderzoeken naar stort-, riool- of gistingsgassen gebeurt de bemonstering door de gassen ter plaatse te vangen op een koude trap. Hoewel met deze methode zelfs zeer vluchtige organometaalverbindingen efficiënt kunnen gevangen worden, is ze vrij arbeidsintensief ('actieve bemonstering'). Bovendien

treden er vaak problemen op onder de vorm van verstopping van de koude trap door CO₂ en water. Feldmann rapporteerde dat deze verstopping er voor zorgt dat er zonder voorzorgsmaatregelen slechts een zeer klein volume gas kon bemonsterd worden (10-20 mL). Bovendien zorgt het CO₂ bij de desorptie voor een dramatische daling in gevoeligheid van de ICP-MS bij het begin van het chromatogram. Daarenboven worden er ernstige piekdeformaties en verschuivingen in retentietijd vastgesteld voor meerdere verbindingen. Als oplossing voor dit probleem werd een NaOH-cartridge voor de koude trap geplaatst om CO₂ en water te vangen. Hoewel dit een efficiënte manier blijkt te zijn om het storende CO₂ te verwijderen, zijn er toch verschillende nadelen aan verbonden. Zo blijkt dat de cartridge elke keer moet vervangen worden (om geheugeneffecten te vermijden), dat er verlies optreedt van minder stabiele verbindingen (o.a. Sb) en dat de capaciteit ook nog relatief beperkt is (cartridge breakthrough bij de analyse van 500 mL stortgas) [Feldmann, 2001].

Haas publiceerde vrij recent een alternatief voor het omslachtige gebruik van een koude trap. De gebruiksvriendelijke methode maakte gebruik van polymeer zakken (ca. 10 L) om gassen te bemonsteren. De nadelen van deze techniek waren een beperkte reproduceerbaarheid (RSD tot 40%) en een beperkte stabiliteit voor bepaalde verbindingen waardoor de analyse bij voorkeur op de dag van de bemonstering dient te gebeuren [Haas, 2000].

1.4.3 Kwalitatieve kalibratie en unidentified flying organometallics (UFO's)

1.4.3.1 Probleemstelling

Bij de toepassing van SBSE op enkele reële monsters bleek al dat er een groot aantal (onbekende) organometaalverbindingen in het milieu kunnen aangetroffen worden. Verschillende onderzoekers in het vakgebied rapporteerden al over 'niet te identificeren' organometaalverbindingen. Zo stelde Grüter onbekende species van Ge, As, Se, Sn, Sb, Te, Hg, Pb en Bi vast bij de analyse van bodemonsters van stortplaatsen [Grüter, 2000]. Bouyssiere vond een zestal onbekende organoarseenverbindingen in een condensaat van aardgas [Bouyssiere, 2001] en Feldmann en Haas botsten op meerdere onbekende organotinverbindingen in stortgas [Feldmann, 1994], [Haas, 2001].

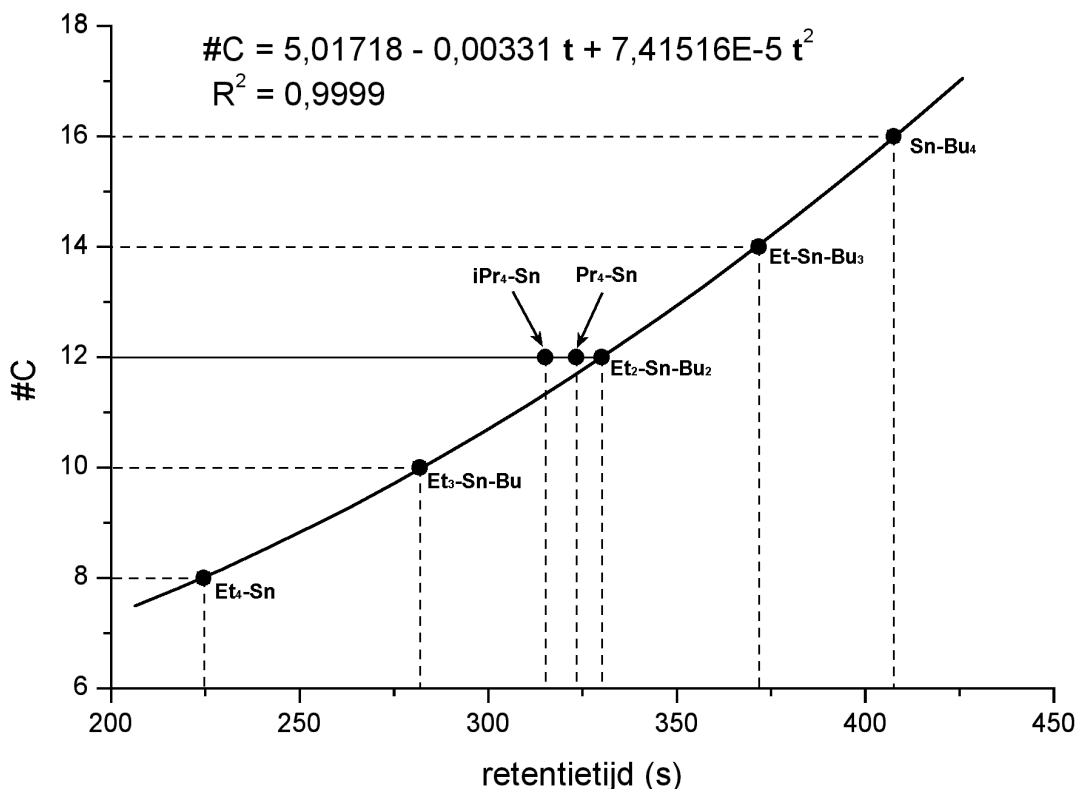
Het probleem bij de identificatie van deze UFO's (unidentified flying organometallics) is dat er slechts een zeer beperkt aantal standaarden beschikbaar is terwijl de mogelijke combinaties van substituenten rond het centraal metaalatoom zeer uitgebreid is. In de meeste gevallen zal het dan ook niet mogelijk zijn om de retentietijd van de onbekende verbinding te vergelijken met die van een gekende standaard. Omwille van de zeer lage concentratie van veel van deze UFO's is het vaak niet mogelijk om moleculaire informatie te verkrijgen met GC-MS. Bij een poging van Feldmann om GC-ICP-MS aan te vullen met GC-MS bleek dat enkel de meeste abundante verbindingen in een stortgas en een gistingsgas konden gedetecteerd worden [Feldmann, 1998]. Het probleem bij de toepassing van GC-MS is dat de gevoeligheid beduidend lager is dan bij GC-ICP-MS en dat de chromatogrammen veel complexer zijn door de aanwezigheid van tal van organische verbindingen in dit soort monsters.

De methode die het meest werd toegepast voor kwalitatieve analyse bestaat uit het opstellen van een kalibratiecurve waarbij de retentietijd in functie het kookpunt (of omgekeerd) van enkele standaarden wordt uitgezet. Afhankelijk van het beschouwde temperatuurgebied, de beschouwde verbindingen en de chromatografische parameters (kolom, ovenprogramma,...) blijkt een 1^e orde [Feldmann, 1995], 2^e orde [Donard, 1986] of 3^e orde [Grüter, 2000] fitting het beste resultaat te geven. In dit werk werd een analoge techniek gebruikt.

1.4.3.2 Kalibratiecurve

Hoewel er verschillende families organometaalverbindingen werden waargenomen (zie verder), werd de kwalitatieve kalibratie enkel uitgevoerd voor de organotinverbindingen. De keuze voor deze groep lag, gezien de rest van dit werk, voor de hand en bovendien waren er meerdere standaarden gemakkelijk verkrijgbaar. In plaats van te werken met een correlatie van de retentietijd met het kookpunt werd er in dit werk gebruik gemaakt van een correlatie tussen de retentietijd en het aantal koolstofatomen (enigszins vergelijkbaar met het Kovats-retentie-index systeem). Deze keuze werd gemaakt omdat niet alle kookpunten van de organotinverbindingen bekend zijn. In het geval van vrij 'exotische' verbindingen

die nog nooit eerder gesignaleerd werden, is het vanzelfsprekend dat er geen kookpunt bekend is. Daarnaast laat deze werkwijze een eenvoudigere voorspelling van de structuur van de verbindingen toe. Intrinsiek wijkt deze methode echter nauwelijks af van de correlatie met het kookpunt omdat dit laatste, binnen eenzelfde familie organometaalverbindingen, (quasi) evenredig is met het aantal koolstofatomen in de molecuule.

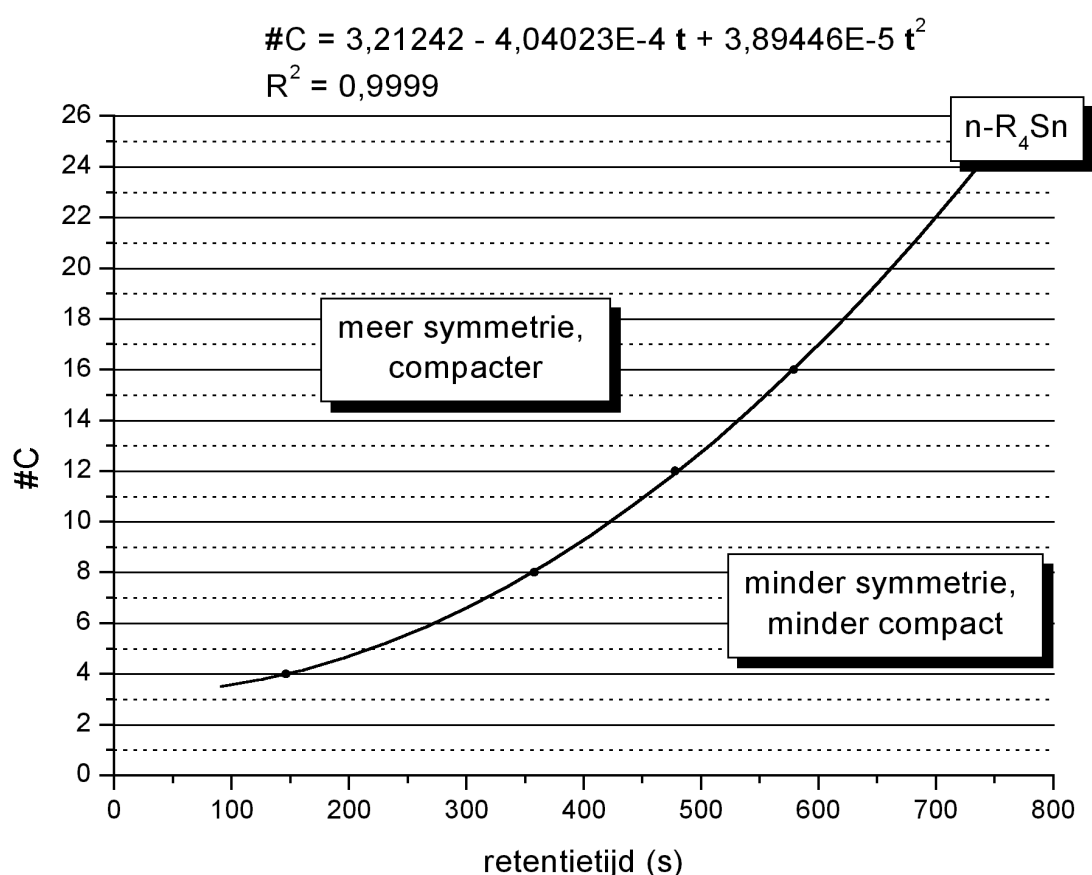


Figuur 8.14: Opstellen van een kwalitatieve kalibratiecurve op basis van een ethyl-n-butyl-Sn reeks (Perkin Elmer GC, ovenprogramma \Rightarrow start: 40°C (1 min) ramp: 35°C/min).

In eerste instantie werd een test gedaan met een reeks ethyl-n-butyl-tinverbindingen (figuur 8.14). Daarbij bleek een functie van 2^e orde een uitstekende fit op te leveren ($R^2 = 0,9999$). Samen met deze reeks werden ook tetrapropyltin en tetraïsopropyltin geïnjecteerd. Voor deze twee verbindingen, die net als diëthyl-dibutyltin 12 koolstofatomen bevatten werd een lagere retentietijd gevonden dan verwacht op basis van de kalibratiecurve. Dit is een vrij logische vaststelling want het retentiegedrag van een verbinding hangt af van de interactie met de stationaire fase (100% PDMS). De mate van interactie wordt niet enkel bepaald door het aantal koolstofatomen, maar ook door de structuur (die samen de sterkte van de Van der

Waals krachten bepalen). In dit opzicht lijkt het logisch dat moleculen met eenzelfde aantal koolstofatomen zich sneller door de kolom zullen begeven naarmate ze compacter en meer symmetrisch opgebouwd zijn.

Met de gegevens uit figuur 8.14 kan ook een andere kalibratiecurve worden opgesteld. Zo kan men op basis van de drie ‘tetra n-alkyltinverbindingen’ (Et_4Sn , Pr_4Sn en Bu_4Sn) een curve opstellen waarbij de coördinaten van de minder symmetrische ethyl-n-butyltinverbindingen en van het compactere tetraïso-propyltin zich onder, respectievelijk boven de curve zullen bevinden.



Figuur 8.15: Opstellen van een kwalitatieve kalibratiecurve op basis van Me_4Sn , Et_4Sn , Pr_4Sn en Bu_4Sn (Hewlett Packard GC, ovenprogramma \Rightarrow start: 35°C (2 min) ramp: $25^\circ\text{C}/\text{min}$).

Deze techniek werd toegepast op de GC en het ovenprogramma die tijdens de belangrijkste toepassing van HSSE (bemonstering van gistingsgassen) werden gebruikt. Op basis van Me_4Sn , Et_4Sn , Pr_4Sn en Bu_4Sn kon ook hier een uitstekend 2^e orde fitting verkregen worden (figuur 8.15). Voor een onbekende verbinding die minder/meer vluchtig is dan de gebruikte standaardreeks zal de retentietijd

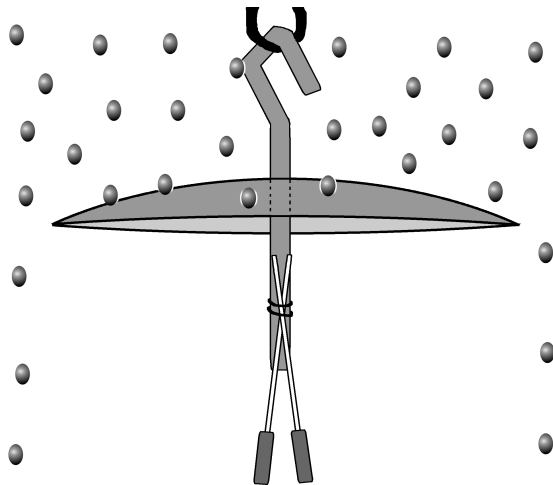
hoger/lager liggen en het aantal koolstofatomen dus over/onderschat worden. Omdat de gebruikte standaarden op zich vrij symmetrisch zijn, kan men verwachten dat er voor de meerderheid van de verbindingen een overschatting zal gebeuren bij het aflezen van het aantal koolstofatomen uit de kalibratiecurve of het invullen van de retentietijd in de betrokken formule. Omgekeerd zou men dan voor moleculen met fenytringen eerder een onderschatting verwachten.

Tot slot van dit deel kan er nog op de invloed van het ovenprogramma gewezen worden. Daarbij zijn enerzijds de starttemperatuur en -tijd van belang en anderzijds de gebruikte temperatuursramp. In het begin van het chromatogram kan men steeds een afwijkend gedrag verwachten voor verbindingen met een kookpunt lager dan of in de buurt van de starttemperatuur. Deze verbindingen zullen namelijk relatief weinig interactie met de kolom vertonen en allemaal in het begin van het chromatogram te vinden zijn. Naarmate de starttemperatuur hoger is zullen er meer verbindingen beïnvloed worden. De periode gedurende dewelke de starttemperatuur wordt aangehouden speelt ook een rol. Tijdens dit initiële temperatuurplateau wordt de GC namelijk onderworpen aan een isotherm ovenprogramma wat een veel vlakke curve zal genereren dan in het geval er een ramp wordt gebruikt. Hierbij aansluitend kan er op gewezen worden dat naarmate de ramp steiler is, de kalibratiecurve ook steiler zal zijn waardoor de voorspelling van het aantal koolstofatomen moeilijker wordt omdat verbindingen met een verschillend aantal koolstofatomen sneller na elkaar zullen eluëren. In dit werk werd voor de analyse van gistingsgassen een temperatuurprogramma gebruikt met een starttemperatuur van 35°C, een starttijd van 2 min en een ramp van 25°C/min. Hiermee werd een compromis gesloten tussen een aanvaardbare scheiding en een niet te lange analysetijd (totale GC-cyclus < 20 min).

1.4.4 Bemonstering

De sorption sticks werden in dit werk gebruikt om buitenlucht en gistingsgassen te bemonsteren.

Het aantal meldingen van organometaalverbindingen in de lucht is zeer beperkt, wat waarschijnlijk te wijten is aan de lage concentratie van deze verbindingen waardoor



Figuur 8.16: Twee sorption sticks bevestigd aan een glazen paraplu-systeem.

ze voor de meeste technieken niet detecteerbaar zijn. De hoge gevoeligheid van de hier gebruikte methode zou daar mogelijk verandering in kunnen brengen. Om bij bemonstering in open lucht te vermijden dat regendruppels de toegang tot de PDMS-laag zouden blokkeren, werden de sticks bevestigd onder een glazen homemade paraplusysteem (figuur 8.16). De duur van de bemonstering varieerde tussen één dag en één maand.

Voor de bemonstering van gistingsgassen kon er gerekend worden op de medewerking van het RWZI Dendermonde. Deze rioolwaterzuiveringsinstallatie (90.000 inwonersequivalenten) bezit als een van de weinige in de streek twee gistingstanks (figuur 8.17) waarin de overmaat actief slib die bij het zuiveringsproces ontstaat, wordt verwerkt. Tijdens dit anaëroob proces kan de slibmassa in een drietal weken tot de helft gereduceerd worden. Het biogas (ca. 65% methaan) dat bij de slibgisting vrijkomt wordt verbrand in gasmotoren die energie leveren voor de installatie. Omdat de grote tanks (elk 3400 m³) deel uitmaken van een gesloten systeem was het niet mogelijk om in de tanks of de gasleidingen zelf te bemonsteren. De sorption sticks werden daarom in een overdrukventiel van de gasleiding (bovenop de tank) geplaatst waar ze zich ook continu in de gasstroom afkomstig van de tank bevonden omdat het ventiel steeds deels geopend is. Na één week werden de sticks verwijderd.



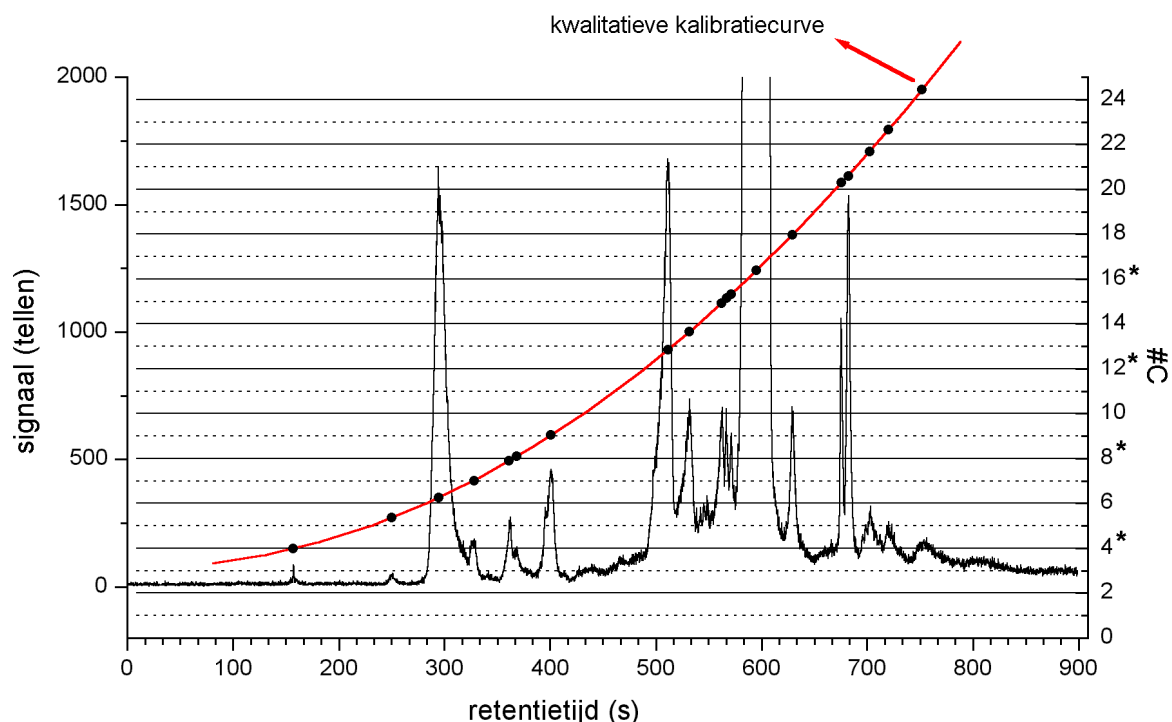
Figuur 8.17: De twee gistingstanks van het RWZI Dendermonde waar de bemonstering werd uitgevoerd.

1.4.5 Resultaten

Bij het beëindigen van de bemonstering werden de sorption sticks onmiddellijk in een proefbuis gebracht en van de lucht afgesloten. De daaropvolgende dag werd de analyse uitgevoerd.

Omdat deze toepassingen een louter kwalitatief karakter hadden en vooral bestemd waren om de bruikbaarheid van deze methode aan te tonen zullen enkel de meest interessante resultaten voorgesteld worden. Het lag (nog) niet in de bedoeling van deze studie om veel uitspraken te doen over de aanwezigheid van organometaalverbindingen in de lucht/gistingsgassen. Er werd dan ook slechts heel beperkt literatuuronderzoek gedaan om de identiteit van de gedetecteerde verbindingen te achterhalen.

1.4.5.1 Sn



Figuur 8.18: Chromatogram voor ^{120}Sn voor een HSSE-bemonstering van gistingsgassen.

Ovenprogramma: 35°C (2 min) – 25°C/min. *: ijkingspunten.

Voor de organotinverbindingen in gistingsgassen werd de identificatiemethode toegepast die eerder in dit hoofdstuk beschreven werd. Het betrokken chromatogram, met een gesuperponeerde kwalitatieve kalibratiecurve is weergegeven in figuur 8.18.

Enkele zaken die opvallen in dit chromatogram zijn:

1. Het groot aantal verbindingen dat kon gedetecteerd worden
2. Het zeer laag signaal voor Me_4Sn vergeleken met enkele minder vluchtige verbindingen (figuur 8.18, na ca. 160 s)
3. De piekverbreding die bij de meeste pieken merkbaar is
4. De aanwezig van semi-vluchtige verbindingen

Tabel 8.5: Mogelijke identiteit van enkele verbindingen in het gistingsgas.

Retentietijd (s)	Mogelijke verbinding
170	Me_4Sn
300	Me_2SnEt_2
370	Et_4Sn
400	OcSnH_3
510	Bu_3SnH
535	Bu_3SnMe
590	Oc_2SnH_2 of OcSnBu_2H
635	Oc_2SnMeH of Ph_3SnMe of OcSnBu_2Me
670	Ph_3SnEt
680	Oc_2SnEt_2

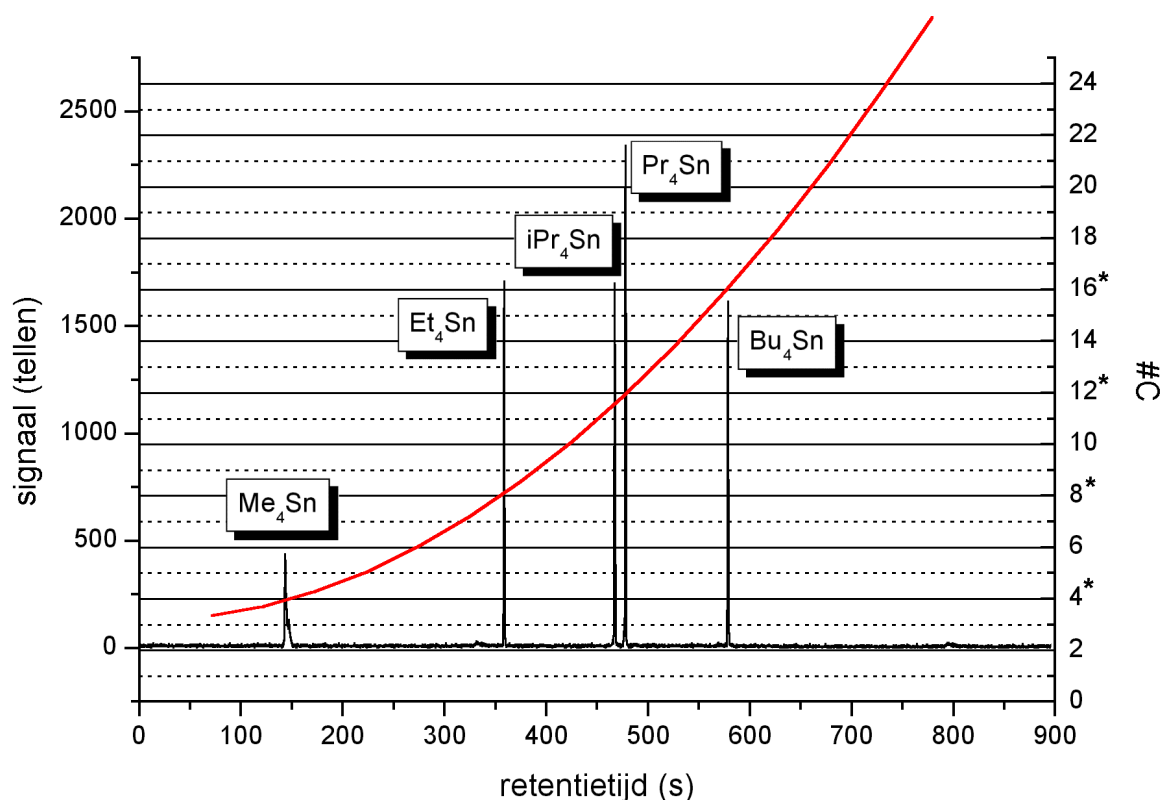
Bij deze meting blijkt, net als bij de analyse van het havenwater met SBSE, dat er veel 'onbekende' organotinverbindingen aanwezig zijn. Haas et al. kwamen vrij recent tot een analoge vaststelling bij de analyse van stortgassen [Haas, 2001]. Hoewel er in hun werk enkele methyl- en ethyltin(hydride)s konden 'herkend' worden, bleef er toch een groot aantal verbindingen ongeïdentificeerd. De kwalitatieve

kalibratiecurve die hier gebruikt wordt, geeft wel een indicatie van het vermoedelijk aantal koolstofatomen maar laat niet toe om de exacte structuur van de verbindingen te voorspellen. Bovendien zouden de onsymmetrische organometaalhydrides relatief ver van het ideaal gedrag van de curve kunnen afwijken zodat het aantal koolstofatomen misschien wel met een eenheid overschat kan worden. Daarnaast draagt de piekverbreding ook bij tot een onzekerheid op de retentietijden waardoor er eveneens een onzekerheid op het aantal koolstofatomen kan bestaan. Ondanks deze kleine beperkingen zullen er toch enkele vermoedens in verband met de identiteit van enkele verbindingen gegeven worden in tabel 8.5. Hierbij wordt beroep gedaan op de kalibratiecurve en op meldingen uit de literatuur.

Het lage signaal voor Me_4Sn en de aanwezigheid en vrij hoge signalen van semi-vluchtige organotinverbindingen is onverwacht. Het is weinig waarschijnlijk dat deze trend een gevolg is van de echte verhoudingen in het gistingsgas. Vermoedelijk speelt de verhoogde temperatuur in de gasstroom ($> 30^\circ\text{C}$) en de hoge gassnelheid in het nadeel van de sorptie van zeer vluchtige verbindingen. Daarnaast zou het ook kunnen dat de meest vluchtige verbindingen onvoldoende vastgehouden werden op de koude trap. Sommige onderzoekers gebruiken het poreuze polymeer Tenax (poly(2,6-diphenyl-p-phenylene oxide)) in de liner van de CIS om zeer vluchtige verbindingen beter vast te houden. Deze techniek werd in dit werk niet toegepast. Bij het vergelijken van de piekoppervlaktes voor een standaardmengsel dat in de TDS werd ingebracht bleek dat de gevoeligheid (tellen per concentratieëenheid als Sn) voor Me_4Sn aanzienlijk lager (ca. 10 keer) was dan voor Bu_4Sn . Dit gegeven wijst duidelijk in de richting van een onvolledig vasthouden in de koude trap.

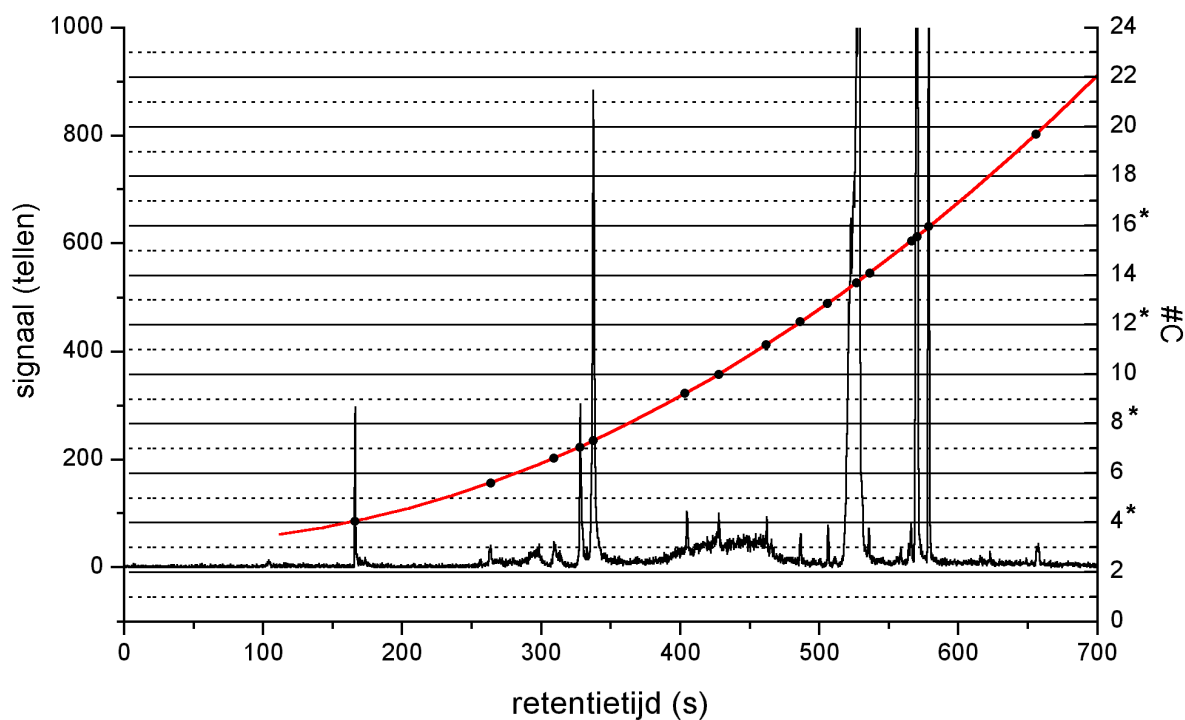
De piekverbreding die werd waargenomen zou verschillende oorzaken kunnen hebben. De meest waarschijnlijke verklaring is dat de aanwezigheid van een grote hoeveelheid organische verbindingen voor een overlading van de kolom zorgde waardoor de chromatografische karakteristieken (b.v. resolutie) nadelig beïnvloed werden. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat onstabiele organotinverbindingen (de hydrides) tijdens de periode tussen bemonstering en desorptie, of tijdens de desorptie zelf, afbreken waardoor ionaire organotinverbindingen worden gevormd. Dit soort verbindingen zou zeer moeilijk te scheiden zijn op de apolaire kolom en zou waarschijnlijk aan veel piekverbreding onderhevig zijn. Indien dit proces effectief

optreedt, dan wordt de kwalitatieve kalibratiecurve voor vele verbindingen waardeloos. De mogelijkheid dat de piekverbreding te wijten is aan degradatie van de kolom kan men uitsluiten. Op dezelfde dag als de sorption stick uit het gistingsgas werd namelijk ook een standaardmengsel (voor het opstellen van de kalibratiecurve) gemeten waarbij geen piekverbreding werd vastgesteld (figuur 8.19). Ook het feit dat er bij de bemonstering van lucht op het platteland -gedurende 10 dagen- (figuur 8.20) nagenoeg geen piekverbreding wordt waargenomen, is een indicatie dat er bij de analyse van gistingsgas een matrixeffect optreedt.



Figuur 8.19: Chromatogram voor ^{120}Sn van het standaardmengsel, gemeten op dezelfde dag als het chromatogram 8.18, dat gebruikt werd om de kwalitatieve kalibratiecurve op te stellen. *:ijkingspunten.

In het chromatogram van de omgevingslucht (figuur 8.20) valt op dat er, in vergelijking met het gistingsgas, een aanzienlijk verschillende distributie is van de verbindingen en dat -zoals verwacht- de totale hoeveelheid beduidend lager is. De mogelijke identiteit van enkele verbindingen in de omgevingslucht is gegeven in tabel 8.6.



Figuur 8.20: Chromatogram van ^{120}Sn voor een HSSE-bemonstering van plattelandslucht.

*:ijkingspunten.

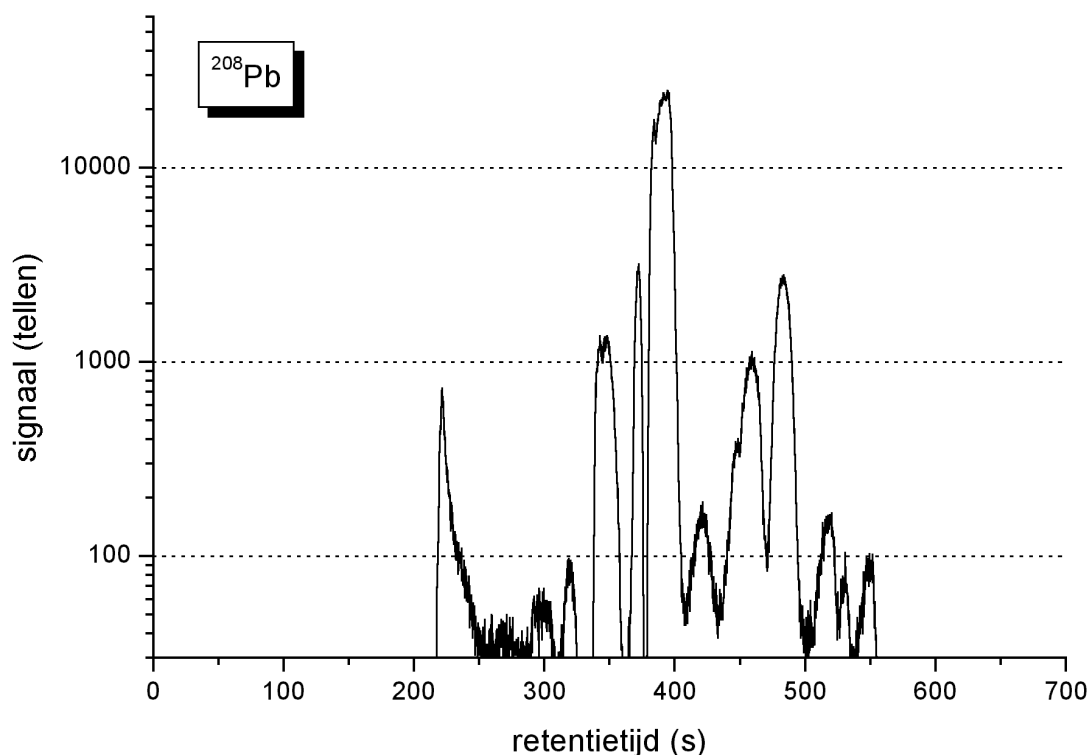
Tabel 8.6: Mogelijke identiteit van enkele verbindingen in omgevingslucht.

Retentietijd (s)	Mogelijke verbinding
170	Me_4Sn
330	Et_3SnMe of BuSnMe_3 of BuSnEtMeH of PhSnMeH_2
340	Et_3SnMe of BuSnMe_3 of BuSnEtMeH of PhSnMeH_2
525	Ph_2SnMe_2 of Bu_3SnMe
570	Ph_2SnEt_2
580	Bu_4Sn

1.4.5.2 Pb

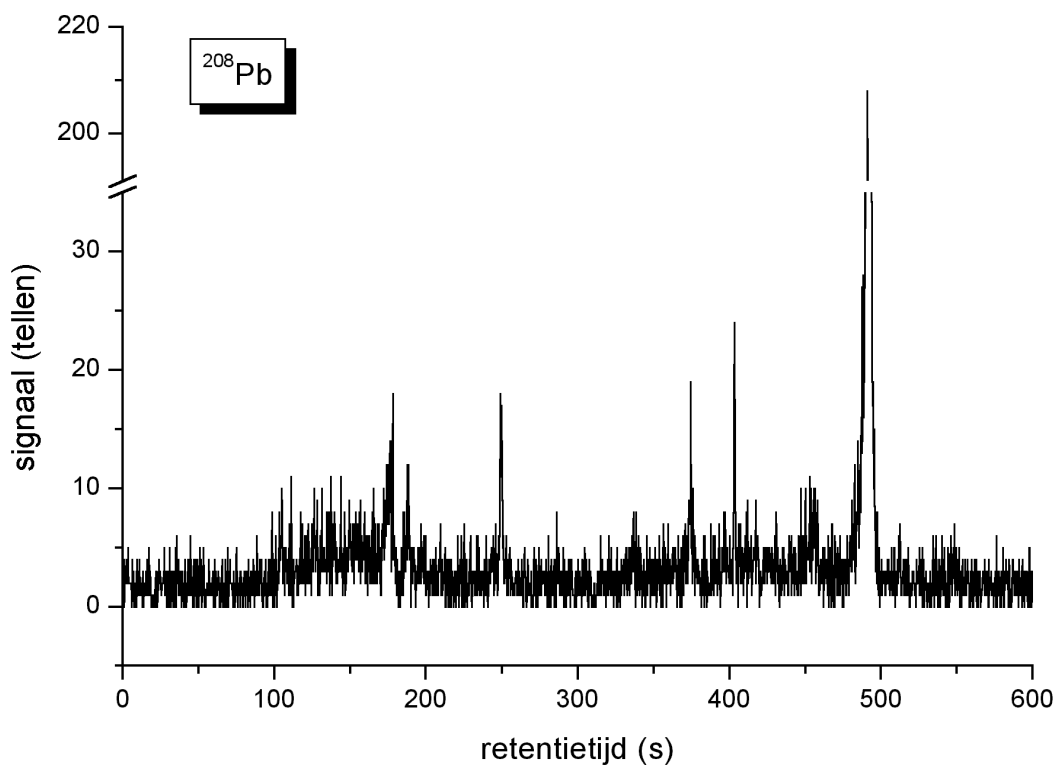
Omdat er enkel voor tin een poging tot kwalitatieve analyse werd uitgevoerd zullen er voor lood en de andere element slechts enkele chromatogrammen getoond worden waarin het grootste aantal verbindingen werd waargenomen. Voor deze verbindingen was het enkel de bedoeling de aanwezigheid van een aantal species aan te tonen.

Er zal dan ook slechts sporadisch een mogelijke identiteit van enkel signalen gegeven worden.

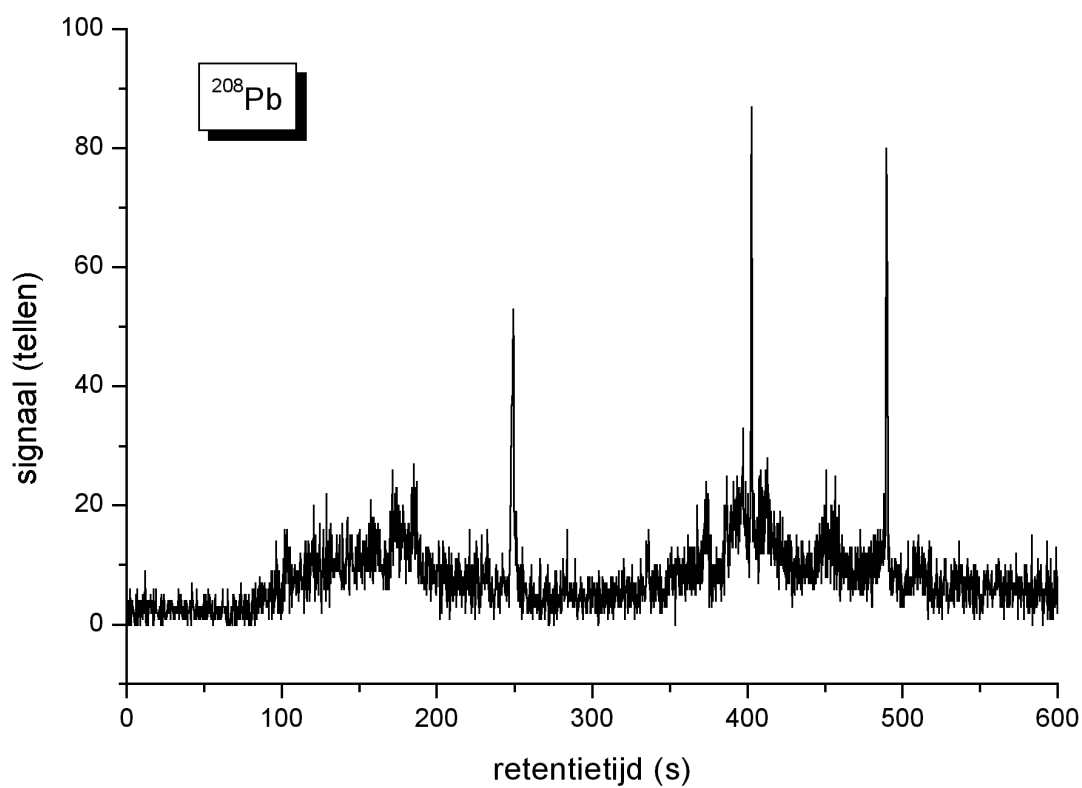


Figuur 8.21: Chromatogram voor ^{208}Pb voor een HSSE-bemonstering van gistingsgassen.

Het chromatogram dat verkregen werd voor het gistingsgas is weergegeven in figuur 8.21. Omwille van het groot verschil in signaalintensiteit werd een logaritmische schaal gebruikt. Net als bij Sn wordt er ook hier een aanzienlijke piekverbreding waargenomen, eveneens in tegenstelling tot een bemonstering in open lucht (figuren 8.22 en 8.23). Op basis van gegevens uit de literatuur lijkt het waarschijnlijk dat de waargenomen verbindingen ethyl-, methyl- en hydridederivaten zijn [Pecheyran, 2000], [Feldmann, 1997], [Feldmann, 2001].



Figuur 8.22: Chromatogram voor ^{208}Pb voor een HSSE-bemonstering in een Gentse tunnel gedurende 10 dagen.



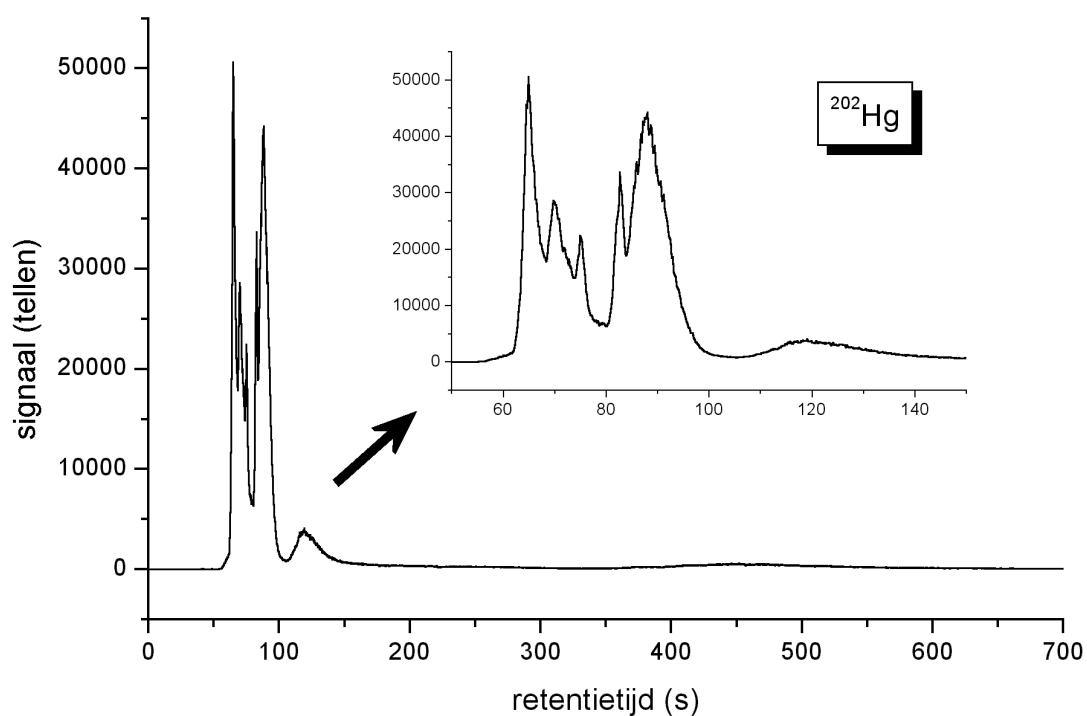
Figuur 8.23: Chromatogram voor ^{208}Pb voor een HSSE-bemonstering nabij E17 (Gent) gedurende één week.

1.4.5.3 Hg

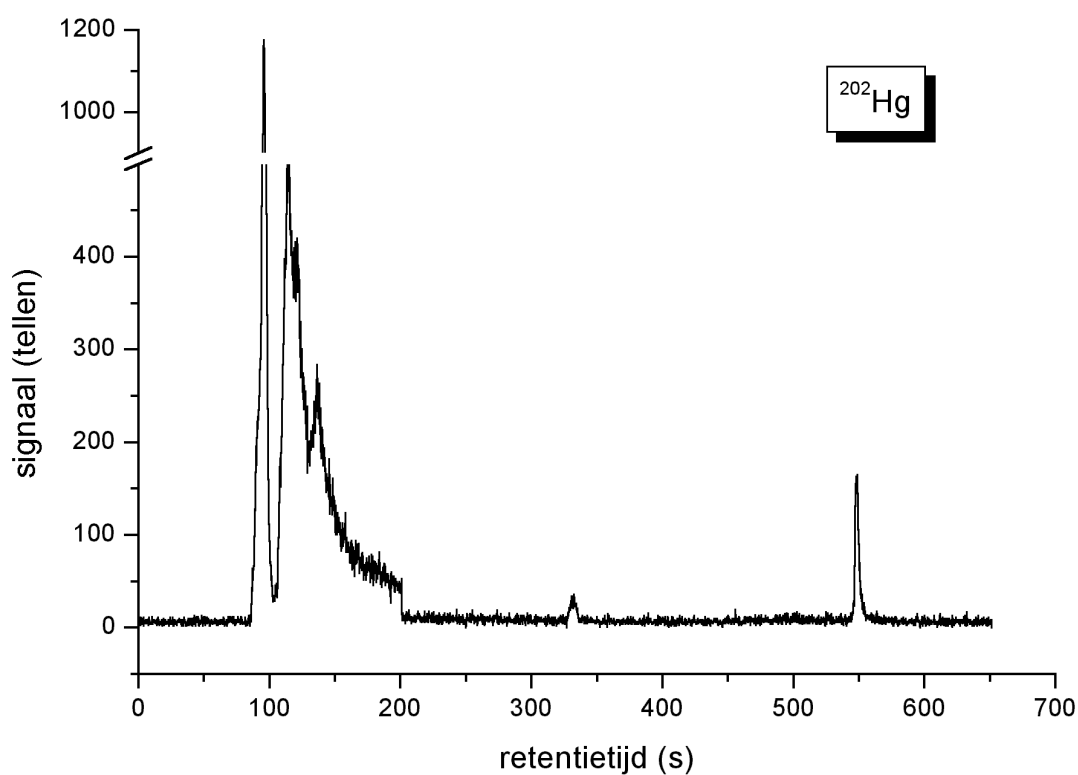
De chromatogrammen voor kwik vertonen gedurende de eerste minuten telkens een vervormd profiel. Vergelijkbaar gedrag werd ondermeer gerapporteerd door Tao et al. [Tao, 1998]. Volgens deze auteur is een kolom met 100% PDMS-fase enkel geschikt om volledig gesubstitueerde organokwikverbindingen zoals Me_2Hg , MeEtHg , Et_2Hg en Bu_2Hg te scheiden en niet voor Hg^0 , HgCl_2 , MeHgCl en EtHgCl . Bovendien achtte hij de kans reëel dat bepaalde kwikverbindingen afbraken bij een te hoge injectietemperatuur tijdens de desorptie of flash heating. Aangezien zowel de TDS als de CIS tot 300°C worden opgewarmd zou deze afbraak ook in dit werk kunnen optreden. Tao rapporteerde ook over het optreden van een ‘valse piek’ in het begin van het chromatogram die niet werd waargenomen wanneer een zeer snelle injectie met behulp van een autosampler werd uitgevoerd. Omdat de flash heating ook een relatief trage manier van injectie is, lijkt het niet uitgesloten dat dit effect ook in dit werk optrad. Tao bekwam enkel aanvaardbare resultaten op een DB-1701 kolom die regelmatig behandeld werd met HBr . Voor de ‘vermoedelijke’ werking van deze methode wordt verwezen naar de vermelde referentie.

Als een soort kwantitatieve controle werd een sorption stick gedurende één dag in een ruimte gebracht die verzadigd was met kwikdamp. Het resultaat was een drievoudige piek, sterk vergelijkbaar met figuur 8.24. Hoewel het dus vrijwel zeker is dat de piek deels te wijten is aan Hg^0 (mogelijk ook deels afkomstig uit het GC draaggas) valt het dus moeilijk te zeggen of er nog andere verbindingen coëluëren binnen dit verstoorde signaal. De aanwezigheid van bijvoorbeeld Me_2Hg valt zeker niet uit te sluiten.

In het chromatogram van de gistinggassen (figuur 8.24) werden, op het vreemde signaal in het begin na, geen andere verbindingen waargenomen. In een chromatogram van tunnelgassen (figuur 8.25) werden wel twee andere kwikverbindingen waargenomen (mogelijk Et_2Hg en Bu_2Hg).



Figuur 8.24: Chromatogram voor ^{202}Hg voor een HSSE-bemonstering van gistingsgassen.

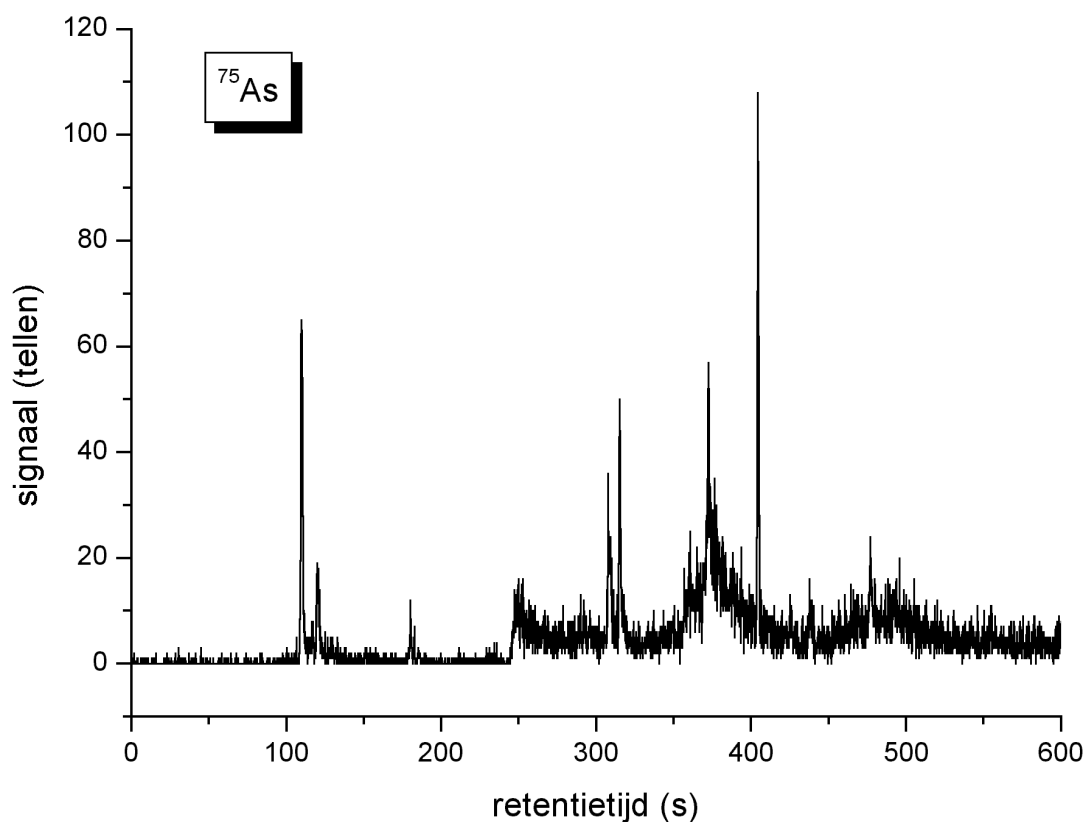


Figuur 8.25: Chromatogram voor ^{202}Hg voor een HSSE-bemonstering in een Gentse tunnel gedurende 10 dagen.

Het mag duidelijk zijn dat speciatie van de (zeer vluchtige) organokwikverbindingen vrij complex is en dat deze materie grotendeels buiten het kader van dit werk valt.

1.4.5.4 As

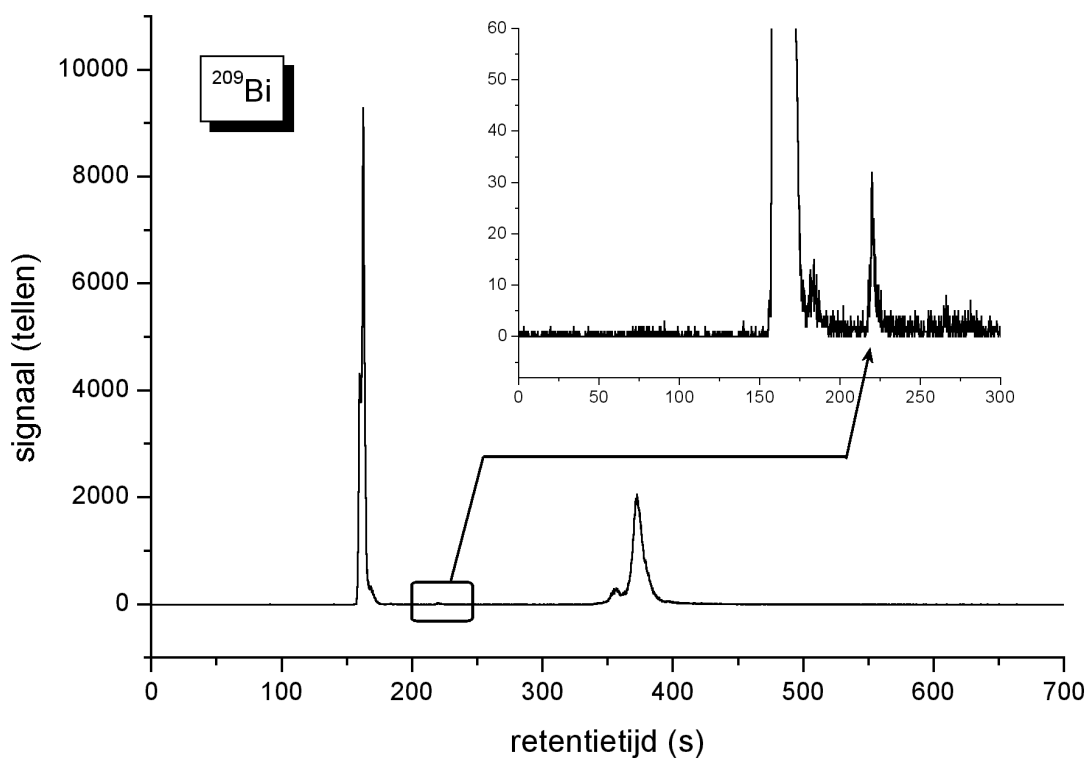
Voor As werd het grootste aantal verbindingen aangetroffen na een bemonstering van twee maanden in de nabijheid van een vat dat frequent gebruikt werd voor de (illegale) verbranding van tuin- en huishoudelijk afval (figuur 8.26). Op basis van de literatuur kan men in lucht vooral Me_xAsH_y verwachten [Feldmann, 1997], [Pecheyran, 1998], [Feldmann, 2001]. Daarnaast zijn er ook meldingen van fenylarseenverbindingen [Bouyssiere, 2001], [Tseng, 2000] en organoarseenchloriden [Mester, 2002]. In verschillende studies zijn er problemen bij de identificatie van de gedetecteerde verbindingen. De aanwezigheid van een 12-tal organoarseenverbindingen (waarvan zeven onbekend) in een bodemonster van een stortplaats [Grüter, 2000] laat vermoeden dat er ook in de lucht tal van 'ongeïdentificeerde' organoarseenverbindingen kunnen aangetroffen worden.



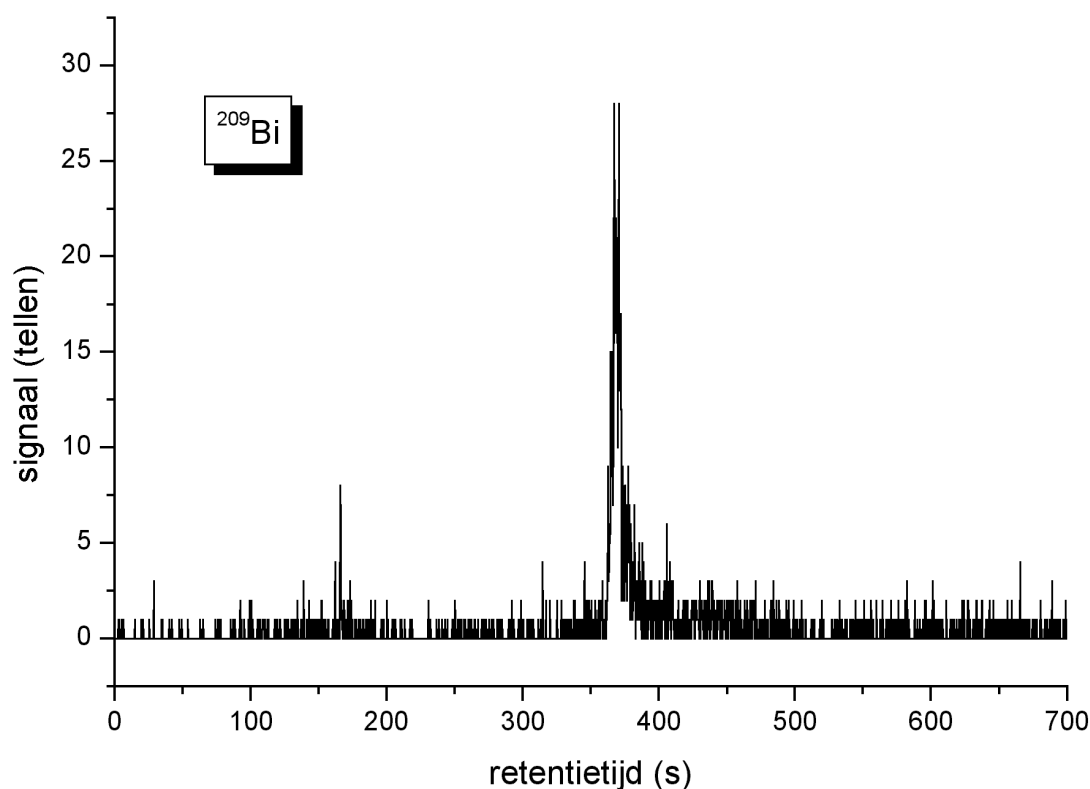
Figuur 8.26: Chromatogram voor ^{75}As voor een HSSE-bemonstering in de buurt van een afvalverbrandingsvat.

1.4.5.5 Bi

Wat het voorkomen van bismutspecies betreft, zijn de ons bekende meldingen beperkt tot BiH_3 , Me_3Bi en in mindere mate MeBiH_2 en Me_2BiH [Haas, 2000], [Grüter, 2000], [Michalke, 2002]. In dit werk werden twee duidelijke signalen waargenomen (naast enkele kleinere pieken). Het signaal met een retentietijd van ca. 160 s is waarschijnlijk Me_3Bi . De identiteit van de verbinding met een retentietijd van ca. 375 s is onbekend. De aanwezigheid van deze verbinding is interessant omdat er, voor zover ons bekend, tot op heden geen enkele melding is van een semi-vluchtige organobismutverbinding.



Figuur 8.27: Chromatogram van ^{209}Bi voor een HSSE-bemonstering van gistingsgassen.



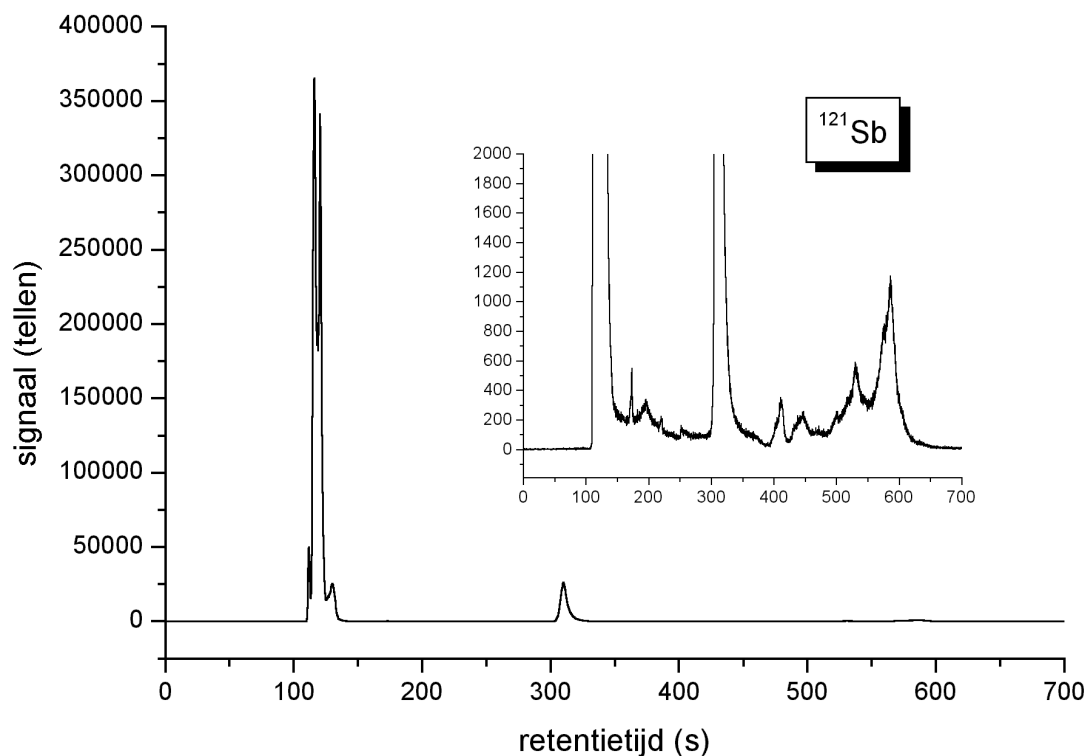
Figuur 8.28: Chromatogram van ^{209}Bi voor een HSSE-bemonstering van plattelandslucht.

1.4.5.6 Sb

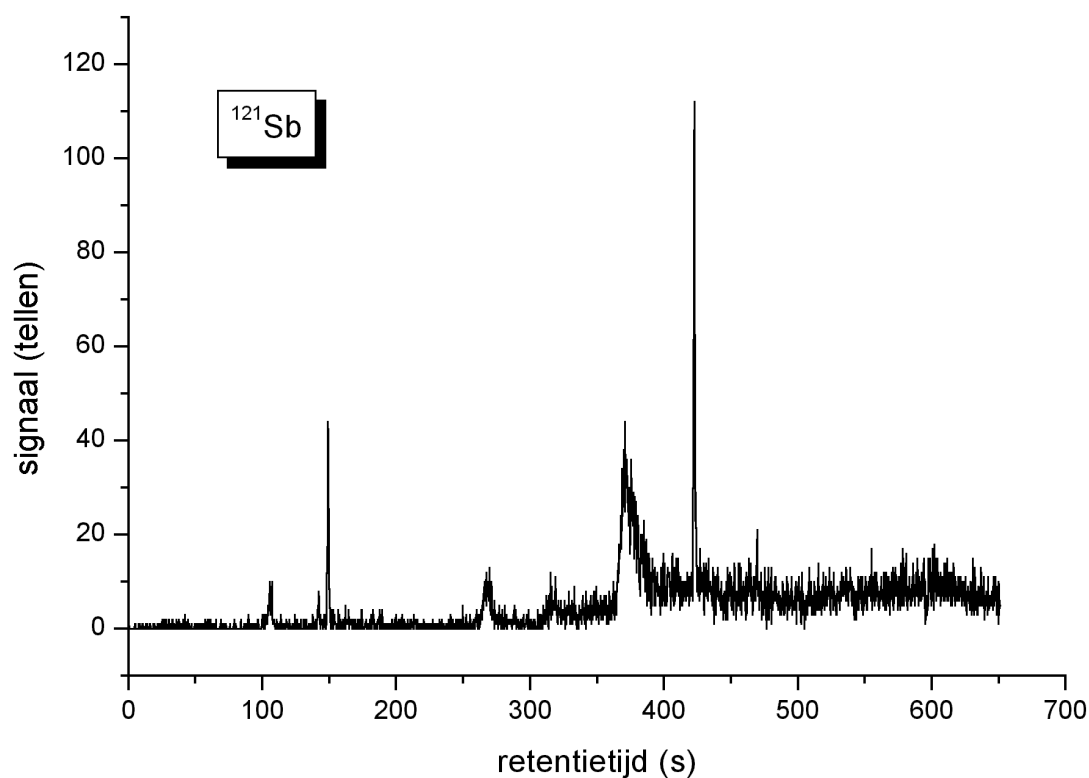
Net als voor arseen en bismut, wordt antimoon vooral onder gemethyleerde en/of hydridevorm aangetroffen [Jenkins, 1998], [Haas, 2000], [Feldman, 2001]. Wat het chromatogram van het gistingsgas betreft kan er een vrij grote gelijkenis met bismut worden vastgesteld. Op ongeveer dezelfde plaats in het chromatogram worden er twee duidelijke signalen waargenomen met daarnaast nog enkele kleinere signalen. Vermoedelijk is de eerste piek Me_3Sb , de identiteit van de tweede abundante verbinding is ook in dit geval onbekend. De signaalhoogte van de eerste piek is opvallend, zeker als men bedenkt dat er mogelijk verlies optreedt van zeer vluchtige verbindingen op de koude trap.

Bij een bemonstering van tunnelgassen (figuur 8.30) werden er veel lagere signalen waargenomen waarvan de retentietijden van de meeste abundante signalen weinig gelijkenis vertonen met figuur 8.29. De scherpe vorm van sommige pieken en de

verbreding bij andere is merkwaardig. De bredere signalen zijn mogelijk afkomstig van ionaire verbindingen.



Figuur 8.29: Chromatogram van ^{121}Sb voor een HSSE-bemonstering van gistingsgassen.



Figuur 8.30: Chromatogram voor ^{121}Sb voor een HSSE-bemonstering van tunnelgassen.

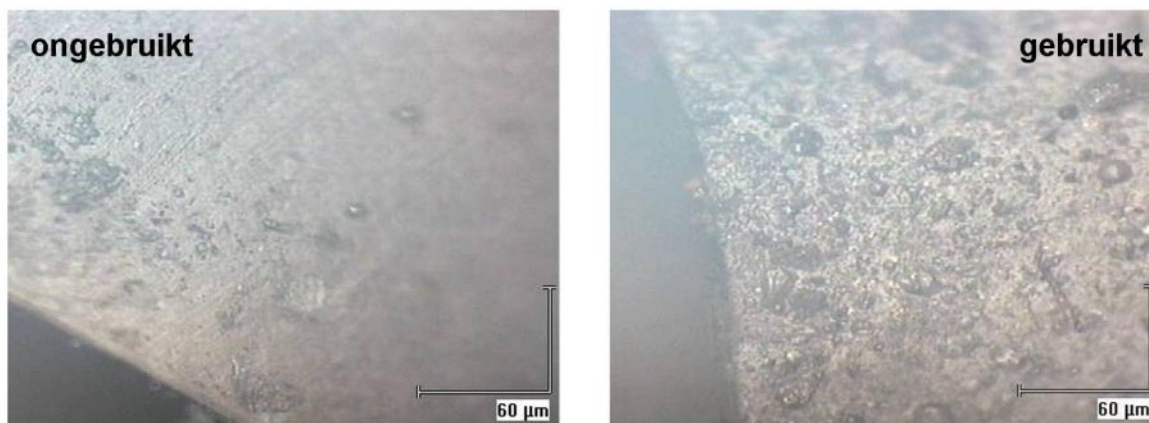
1.4.5.7 Conclusies

Uit de voorgaande besprekingen kan men concluderen dat:

- er een groot aantal onbekende verbindingen 'ontdekt' werden, met name in gistingsgassen
- HSSE een interessante aanvulling kan zijn bij het onderzoek naar vluchtige organometaalverbindingen
- kwalitatieve analyse niet evident is wanneer men niet over standaardoplossingen van de betrokken verbindingen beschikt
- kwantitatieve analyse nog complexer is omwille van variatie in temperatuur, wind, luchtvochtigheid,... omdat evenwichts- en snelheidsconstanten van de betrokken processen meestal onbekend zijn en omdat het bemonsterd volume vaak 'onbekend' is.
- er nog heel wat 'braakliggend terrein' in dit onderzoeksgebied aanwezig is.

1.4.6 Robuustheid van de coating

Om de robuustheid van de sorption sticks te onderzoeken is het aangewezen om de effecten van het gebruik op lange termijn te bestuderen. Hierbij kan men naast de gevoeligheid en herhaalbaarheid ook de fysische schade aan de coating onderzoeken. In dit werk werd er vastgesteld dat de coating na gebruik een zekere schade had opgelopen. Met het blote oog kon er een verkleuring vastgesteld worden en onder een microscoop bleek dat het PDMS oppervlak ruwer geworden was (figuur 8.31). De oorzaak hiervan is mogelijk te wijten aan het gebruik van de hoge desorptietemperatuur (300°C) en/of de aanwezigheid van stofdeeltjes op de coating tijdens de desorptie. Of dit effect ook de analytische prestaties van de coating beïnvloedt, werd niet onderzocht. Zelfs indien dit zo zou zijn, kan men nog steeds overschakelen op een eenmalig gebruik van de sticks.



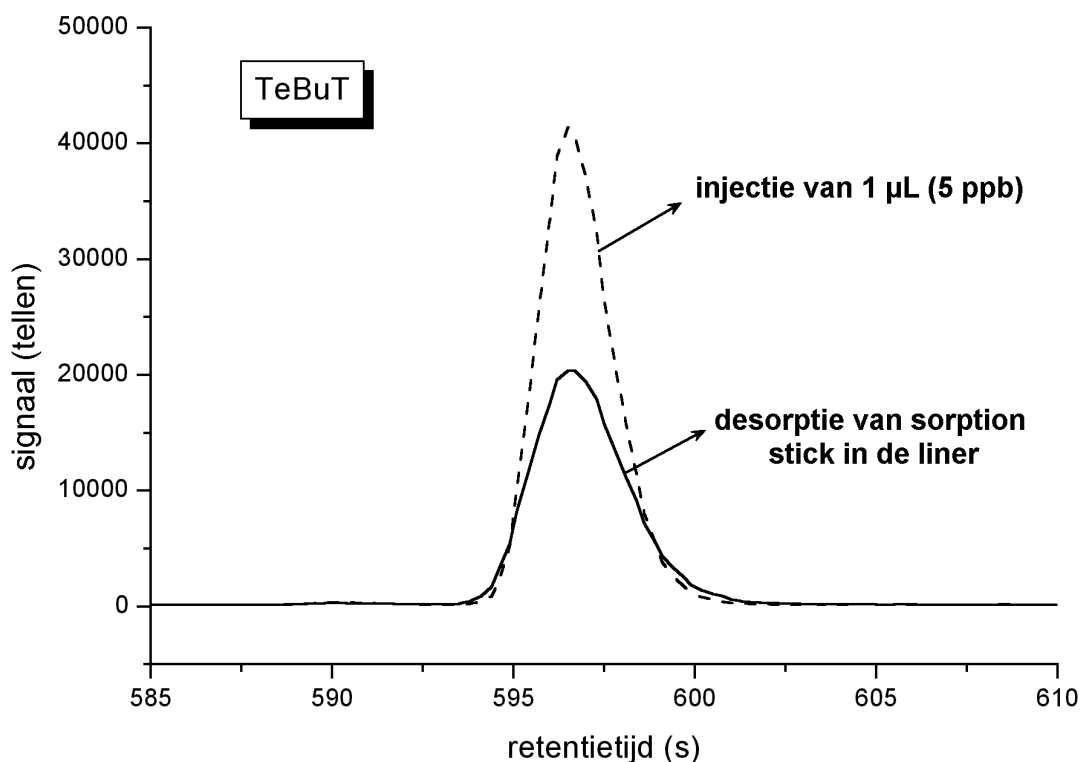
Figuur 8.31: Close-up van een ongebruikte (links) en gebruikte (rechts) sorption stick.

1.4.7 Desorptie in conventionele liner

Omdat het gebruik van een TDS en een CIS een extra drempel vormen voor de toepassing van SBSE of HSSE in vergelijking met SPME, werd er onderzocht of de desorptie niet in een gewone liner kan uitgevoerd worden. In een van de eerste HSSE-publicaties werd desorptie eveneens in een gewone injector uitgevoerd [Bicchi, 2000]. De auteurs maakten gebruik van een systeem waarbij het HSSE-systeem gekoppeld was aan een schroefdop die zowel op de extractievial als op de injector paste. Er werd gebruik gemaakt van een desorptiestap van 5 min bij 230°C in de split (!) mode. Deze techniek bleek tot goede resultaten te leiden, hoewel er enkel in een relatief zuivere omgeving (headspace van planten) bemonsterd werd en er slechts een fractie van de gesorbeerde verbindingen op de kolom terecht kwam.

In dit werk werd een sorption stick gedurende één minuut boven een TeBuT-standaardoplossing (5 µg/L in iso-octaan) gehouden. Vervolgens werd de injectiekamer van de GC losgeschroefd, de stick ingebracht, alles terug vastgeschroefd en het ovenprogramma gestart. Omdat de dikkere coating een langere desorptietijd vraagt, werd het ovenprogramma van de GC aangepast. Bij de aanvang van de 'run' werd de oven gedurende vijf minuten bij 40°C gehouden. Tijdens deze isotherme periode bevond het injectiesysteem (270°C) zich in de splitless positie zodat alle verbindingen die van de stick kwamen naar de kolom werden gevoerd waar ze aanvankelijk condenseerden. Na de desorptiestap (bij het

begin van de 'ramp') werd de split valve geopend, maar bleef de stick in de injectieliner tot het einde van het ovenprogramma (want de stick kan niet verwijderd worden tijdens de scheiding zonder een drukval in de kolom te veroorzaken). Het resultaat van dit experiment leverde weinig verschil op in vergelijking met een gewone injectie van de bemonsterde oplossing in dezelfde liner en met hetzelfde ovenprogramma (figuur 8.32).



Figuur 8.32: Vergelijking van een TeBuT-sigitaal van een gewone injectie met een sigitaal bekomen na desorptie van een sorption stick in de liner.

In een ander experiment werd na een eerste desorptie en chromatografische scheiding (waarbij de stick zich ca. 15 minuten in het injectiesysteem bevond) een tweede identieke meting gestart met dezelfde stick. Bij de tweede run werd een sigitaal waargenomen dat 2% van het eerste sigitaal bedroeg wat wijst op een beperkte analietoverdracht. Welke fractie er verloren gaat tijdens de 'ramp', wanneer de valve geopend is, werd niet onderzocht.

Hoewel dit enkele veelbelovende resultaten zijn, valt er toch te vrezen dat de prestaties minder goed zullen zijn bij meer complexe monsters (b.v. gistingsgassen). Bovendien is de kans reëel dat er een deel van de verbindingen verloren gaat in de

periode tussen het inbrengen van de stick in de hete injectieliner en het hersluiten van het injectiesysteem (met een slechtere herhaalbaarheid tot gevolg). Daarnaast bestaat ook het gevaar dat bij het openen van de injector zuurstof in de kolom geïntroduceerd wordt, wat op termijn nadelig zal zijn voor de chromatografische prestaties.

1.5 Conclusie

Het mag duidelijk zijn dat er intrinsiek geen verschil is tussen SPME, SBSE en HSSE. Het voordeel van SBSE en HSSE is ongetwijfeld de grotere hoeveelheid fase waardoor de meeste verbindingen met een grotere opbrengst kunnen geëxtraheerd worden. Daartegenover staat dat de eenvoud van SPME moeilijk te evenaren is en dat er voor SBSE en HSSE langere desorptietijden nodig zijn om een kwantitatieve overdracht te bekomen.

Bij SBSE gaat de aanwezigheid van de stir bar 'in' het monster zoals verwacht gepaard met een soms vrij groot matrixeffect waardoor correctie met inwendige standaard en/of standaardadditie absoluut noodzakelijk is. De gevoeligheid van de methode liet toe om organotinverbindingen op ppq-niveau te detecteren in watermonsters. Bovendien kwam bij dit monster de aanwezigheid van tal van onbekende organotinverbindingen aan het licht. Uit de analyse van een referentiemateriaal bleek dat ook op basis van SBSE accurate resultaten behaald worden.

HSSE, dat als een variant van headspace SPME kan beschouwd worden, werd in dit werk toegepast voor screening van verschillende organometaalverbindingen in de gasfase. Sorption sticks werden onder andere gebruikt om stads-, tunnel- en plattelandslucht te bemonsteren. De belangrijkste toepassing bestond uit de screening van gistingsgassen die vrijkomen bij de slibverwerking van een waterzuiveringsinstallatie. Daarbij werden voor verschillende families van organometaalverbindingen een groot aantal verbindingen waargenomen. Voor de organotinverbindingen werd een kwalitatieve kalibratiecurve opgesteld die de

retentietijd koppelt aan het aantal koolstofatomen. Deze kalibratiecurve liet toe om voorstellen te doen in verband met de structuur van de waargenomen verbindingen. De analyse van de gistingsgassen ging gepaard met een signaalverbreding van verschillende pieken die waarschijnlijk aan een matrixeffect te wijten is.

Hoewel HSSE in een kleine gesloten omgeving (b.v. vial) ongetwijfeld kwantitatieve analyse toelaat lijkt dit voor bemonstering in open lucht zeer moeilijk haalbaar omwille van de variatie in tal van omgevingsfactoren en het 'onbekende' bemonsteringsvolume.

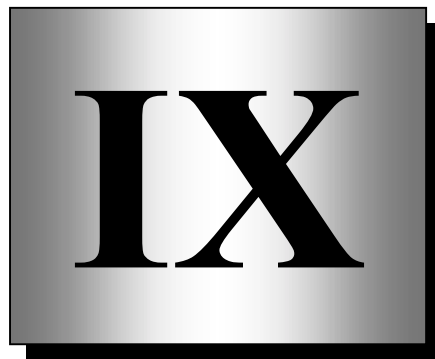
De toepassing van SBSE en HSSE voor de bepaling van organometaalverbindingen laat ongetwijfeld nog veel onbeantwoorde vragen open en biedt nog zeer veel ruimte voor verder onderzoek. Onder andere de matrixeffecten die in verschillende stappen van de analyse kunnen optreden en de toepasbaarheid van desorptie in een conventionele liner lijken interessante domeinen die om meer opheldering vragen.

1.6 Referenties hoofdstuk 8

•	Andrewes, 1998	Andrewes P, Cullen WR, Feldmann J, Koch I, Poishchuk E en Reimer E, APPL ORGANOMET CHEM, 1998 , 12, 827-842
•	Baltussen, 1997	Baltussen E, Janssen H-G, Sandra P en Cramers C, J HIGH RES CHROMATOG, 1997 , 20, 385-393
•	Baltussen, 1999	Baltussen E, Sandra P, David F en Cramers C, J MICROCOLUMN SEP, 1999 , 11, 737-747
•	Baltussen, 2000	Baltussen E, doctoraatsproefschrift, 2000 , Technische Universiteit Eindhoven, Nederland
•	Basnayake, 2001	Basnayake RST, Bius JH, Akpolat OM en Chasteen TG, APPL ORGANOMET CHEM, 2001 , 15, 499-510
•	Benijts, 2001	Benijts T, Vercammen J, Dams R, Tuan HP, Lambert W en Sandra P, J CHROMATOGR B, 2001 , 755, 137-142
•	Bicchi, 2000	Bicchi C, Cordero C, Iori C, Rubiolo P en Sandra P, J HIGH RES CHROMATOG, 2000 , 23, 539-546
•	Bicchi, 2002	Bicchi C, Iori C, Rubiolo P en Sandra P, J AGR FOOD CHEM, 2002 , 50, 449-459
•	Bouyssiére, 2001	Bouyssiére B, Franck B, Savary L, Garraud H, Gallup DL en Lobinski R, J ANAL AT SPECTROM, 2001 , 16, 1329-1332
•	Donard, 1986	Donard OFX, Rapsomanikis S en Weber JH, ANAL CHEM, 1986 , 58, 772-777
•	Feldmann, 1994	Feldmann J, Grümping R en Hirner AV, FRESEN J ANAL CHEM, 1994 , 350, 228-234

•	Feldmann, 1997	Feldmann J en Cullen WR, ENVIRON SCI TECHNOL, 1997 , 31, 2125-2129
•	Feldmann, 1998	Feldmann J, Koch I en Cullen WR, ANALYST, 1998 , 123, 815-820
•	Feldmann, 2001	Feldmann J, Naëls L en Haas K, J ANAL AT SPECTROM, 2001 , 16, 1040-1043
•	Grüter, 2000	Grüter UM, Kresimon J en Hirner AV, FRESEN J ANAL CHEM, 2000 , 368, 67-72
•	Haas, 2000	Haas K en Feldmann J, ANAL CHEM, 2000 , 72, 4205-4211
•	Haas, 2001	Haas K, Feldmann J, Wennrich R en Stark HJ, FRESEN J ANAL CHEM, 2001 , 370, 587-596
•	Heiden, 2001	Heiden AC, Kolahgar B en Hoffmann A, Gerstel Application Note 8, 2001 (www.gerstel.com)
•	Hirner, 1994	Hirner AV, Feldmann J, Goguel R, Rapsomanikis S, Fischer R en Andrae MO, APPL ORGANOMET CHEM, 1994 , 8, 65-69
•	Jenkins, 1998	Jenkins RO, Craig PJ, Miller DP, Stoop LCAM, Ostah N en Morris TA, APPL ORGANOMET CHEM, 1998 , 12, 449-455
•	Kawata, 1993	Kawata K, Minaga WA, Fujieda Y en Yasuhara A, J CHROMATOGR A, 1993 , 653, 369-373
•	Mester, 2002	Mester Z en Sturgeon RE, ENVIRON SCI TECHNOL, 2002 , 36, 1198-1201
•	Michalke, 2002	Michalke K, Meyer J, Hirner AV en Hensel R, APPL ORGANOMET CHEM, 2002 , 16, 221-227
•	Morabito, 1998	Morabito R, Soldati P, de la Calle MB en Quevauviller P, APPL ORGANOMET CHEM, 1998 , 12, 621-634
•	Ochiai, 2001	Ochiai N, Sasamoto K, Takino M, Yamashita S, Daishima S, Heiden AC en Hoffmann A, ANALYST, 2001 , 126, 1652-1657
•	Perez, 1999	Perez C, Ingenieursthesis INA P-G en Universiteit Gent, 1999
•	Popp, 2001	Popp P, Bauer C en Wennrich L, ANAL CHIM ACTA, 2001 , 436, 1-9
•	Sandra, 2001	Sandra P, Tienpont B, Vercammen J, Tredoux A, Sandra T en David F, J CHROMATOGR A, 2001 , 928, 117-126
•	Suzuki, 1999	Suzuki T, Kondo K, Uchiyama M en Murayama M, J AGR FOOD CHEM, 1999 , 47, 3886-3894
•	Tao, 1998	Tao H, Murakami T, Tominaga M en Miyazaki A, J ANAL AT SPECTROM, 1998 , 13, 1085-1093
•	Tao, 1999	Tao H, Rajendran RB, Quetel CR, Nakazato T, Tominaga M en Miyazaki A, ANAL CHEM, 1999 , 71, 4208-4215
•	Tienpont, 2000	Tienpont B, David F, Bicchi C en Sandra P, J MICROCOLUMN SEP, 2000 , 12, 577-584
•	Tienpont, 2002	Tienpont B, David F, Desmet K en Sandra P, ANAL BIOANAL CHEM, 2002 , 373, 46-55
•	Tseng, 2000	Tseng CM, Amouroux D, Brindle D en Donard OFX, J ENVIRON MONIT, 2002 , 2, 603-612
•	Wickenheiser, 1998	Wickenheiser EB, Michalke K, Drescher C, Hirner AV en Hensel R, FRESEN J ANAL CHEM, 1998 , 362, 498-501

Hoofdstuk



SAMENVATTING & SUMMARY

*Pile up too many tomorrows and you'll find that you've collected nothing
but a bunch of empty yesterdays ... (M. Willson)*

Samenvatting

De organotinverbindingen (**Hoofdstuk 1**) horen zonder twijfel bij de belangrijkste soorten organometaalverbindingen. Het overgrote deel van verbindingen uit deze groep bestaat uit een centraal tinatoom, omgeven door één tot vier organische substituenten. De eigenschappen van de verbindingen, die onderling sterk kunnen verschillen, zijn afhankelijk van de substitutiegraad en van de aard van organische groepen. Deze diversiteit uit zich in de brede waaier van toepassingen. Zo zijn mono- en diorganotinverbindingen van belang als stabilisator of katalysator in de polymeerindustrie en worden de triorganotinverbindingen vooral gebruikt als biociden. Met name tributyltin (TBT), dat in aangroeiwerende verven voor schepen gebruikt wordt, en in mindere mate trifenyyltin (TPHT), dat veelvuldig als fungicide wordt toegepast, behoren tot de meest beruchte leden van de familie. Uit diverse studies blijkt dat chronische toxiciteit bij bepaalde zeedieren (slakken, mosselen,...) al vanaf ppt-niveau kan optreden. Een van de bekendste effecten is het ontstaan van mannelijke geslachtsorganen (= imposex) bij vrouwelijke purperslakken die leven in water met 1 ng/L TBT. Het besef dat bepaalde organotinverbindingen reeds bij zeer lage concentraties grote gevolgen voor het ecologisch evenwicht kunnen hebben heeft voor veel belangstelling op tal van domeinen gezorgd. De organotinproblematiek staat tegenwoordig niet enkel op het programma van de Internationale Maritieme Organisatie (IMO) of de Europese Commissie, maar bereikt via de pers meer en meer de man (of vrouw) in de straat.

Het spreekt voor zich dat het aanpakken van deze problematiek onmogelijk is indien men niet over de juiste middelen beschikt om de verbindingen in het milieu te detecteren. Omwille van de grote verschillen in toxiciteit tussen anorganisch tin en organotinverbindingen enerzijds, en binnen de organotinverbindingen anderzijds is het van groot belang om over technieken te beschikken die tinspeciatie mogelijk maken (speciatie = bepaling van de verschillende chemische vormen van een element in een monster). Speciatie van organometaalverbindingen gebeurt meestal met gekoppelde ('hyphenated') technieken. Hierbij worden de verbindingen gescheiden op basis van hun structuur (voornamelijk bepaald door de organische

substituenten). De detectie gebeurt vaak door registratie van het signaal voor het metaalatoom in functie van de tijd. Op die manier bekomt men een chromatogram dat enkel bestaat uit pieken afkomstig van organometaalverbindingen die opgebouwd zijn rond hetzelfde metaalatoom (b.v. tin). In dit werk werd de scheiding uitgevoerd door middel van gaschromatografie (GC) en werd het tinsignaal geregistreerd met inductief gekoppeld plasma massaspectrometrie (ICP-MS). In tegenstelling tot een voorgaand werk, waar vooral aandacht werd besteed aan butyltinverbindingen, was dit werk vooral gericht op TPhT.

Hoewel ICP-MS (**Hoofdstuk 2**) vaak centraal staat in de proefwerken binnen de onderzoeksgroep atoom- en massaspectrometrie werd de techniek in het overgrote deel van het werk 'slechts' als tinctector gebruikt en werd er op dit vlak nauwelijks vernieuwend werk uitgevoerd. Tijdens het onderzoek werden twee ICP-MS toestellen gebruikt: een Perkin Elmer SCIEX Elan 5000 en een Hewlett Packard HP4500. Dit laatste toestel werd rond de start van dit onderzoek in gebruik genomen. Aangezien dit het eerste proefschrift is waarin de HP4500 vrij frequent werd gebruikt, wordt in dit werk extra aandacht aan dit toestel geschonken.

Ook op het vlak van gaschromatografie (**Hoofdstuk 3**) werd vooral beroep gedaan op de resultaten van voorgaand werk. Enkel voor de scheiding van TPhT en de bijhorende inwendige standaard tricyclohexyltin (TCT) diende een aangepast temperatuurprogramma te worden opgesteld. De scheiding tussen beide verbindingen bleek eenvoudig manipuleerbaar door de introductie van een temperatuursplateau bij 220°C. Naast deze aanpassing werd ook een test uitgevoerd met een ander type kolom (DB-5). De grotere affiniteit voor het aromatische TPhT speelde echter in het nadeel van de scheiding. TPhT, dat op de klassieke kolom (DB-1) als eerste elueert, werd relatief minder versneld dan TCT waardoor beide verbindingen quasi gelijktijdig van de kolom elueerden.

Omdat de meeste gaschromatografen met een ingebouwde detector werken, zorgt de transfer van de kolom naar de detector doorgaans voor weinig problemen. Bij de koppeling met een ICP-MS toestel moeten de verbindingen buiten de (verwarmde) GC getransporteerd worden naar het ICP. Om condensatie (en de daarmee gepaard gaande piekverbreding) tijdens dit transport tegen te gaan wordt gebruik gemaakt

van een verwarmde transferlijn (**Hoofdstuk 4**). In het begin van het onderzoek werd een transferlijn gebruikt die in de onderzoeksgroep atoom- en massaspectrometrie van de Universiteit Gent door Van Tittelboom en De Smaele werd ontwikkeld. Deze transferlijn zorgde voor een verwarmd pad tot middenin de toorts waardoor piekverbreding ook op lange termijn kon vermeden worden. Een ander belangrijk aspect was de aanwezigheid van een buis waarin het ICP-draaggas (Ar) werd verwarmd alvorens het in contact kwam met het transfercapillair. In de loop van dit onderzoek werden meerdere transferlijnen gebouwd in samenwerking met Van Tittelboom. Daarbij werden enkele vernieuwingen doorgevoerd: in plaats van een aparte spiraal te gebruiken werd de buis die het Ar voorverwarmde ingebouwd in de transferlijn, de twee stroomkringen van de oude transferlijn werden samengevoegd tot één enkele stroomkring en als spanningsbron werd een gestabiliseerde gelijkspanningsvoeding in gebruik genomen. De temperatuur van de nieuwe transferlijn bleek tot op 0,1°C stabiliseerbaar. In dit werk werd ook vrij veel aandacht besteed aan het achtergrondsignaal van tin dat steeds wordt waargenomen bij een warme transferlijn en aan de spikes die waargenomen worden tijdens opwarming of afkoeling. Als hoofdverdachte kwam de polyimidetape, die gebruikt werd om het stuk in de toorts te isoleren, uit de bus. Uit onderzoek bleek dat deze tape tot 10% tinoxide bevat.

Alhoewel ICP-MS algemeen als een multi-element techniek wordt beschouwd, kunnen toestellen die uitgerust zijn met een quadrupool massaspectrometer slechts één element (eigenlijk 'massa op lading') tegelijkertijd registreren. Voor constante signalen, zoals die ondermeer verkregen worden bij pneumatische verstuiving, vormt dit nauwelijks een belemmering. Wanneer men meerdere transiënte signalen wil registreren is het van groot belang om de meettijd zo efficiënt mogelijk te gebruiken. Daarbij dient men ook rekening te houden met het relatief belang van de 'settling time', de tijd die nodig is om het massavenster van de quadrupool te wijzigen en voor de daaropvolgende stabilisatie. Gedurende deze 'verloren' tijd -in de orde van milliseconden- wordt geen signaal geregistreerd. Naarmate men het massavenster meer laat verspringen (wat neerkomt op het gebruik van kortere 'dwell times') zal het relatief aandeel van deze verloren tijd groter worden en zullen prestaties van het toestel dalen. In **Hoofdstuk 5** wordt deze problematiek vanuit theoretisch standpunt behandeld. Uit de theoretische benadering blijkt ondermeer dat het sampling interval

voor een Gaussiaanse piek niet groter dan σ hoeft te zijn (= vier datapunten per piek). Op het einde van het hoofdstuk werd een vergelijking gemaakt tussen de mogelijkheden en beperkingen van een quadrupool massaspectrometer enerzijds en een time-of-flight (TOF) massaspectrometer anderzijds. Daaruit blijkt dat voor het overgrote deel van de reële GC-ICP-MS toepassingen een quadrupool meer geschikt is dan een TOF massaspectrometer.

Naast scheiding en detectie speelt ook de extractie van de verbindingen een zeer belangrijke rol binnen de analyse. In dit werk werd in eerste instantie verder gebouwd op een voorgaand onderzoek waarbij solid phase microextraction (SPME) (**Hoofdstuk 6**) als extractietechniek voor organotinverbindingen werd geïntroduceerd. Bij SPME wordt de extractie uitgevoerd in een gecoate fiber die ingebouwd is in een soort injectienaald. Voor de toepassingen in dit werk werd steeds gebruik gemaakt van een coating die voor 100% uit polydimethylsiloxaan (PDMS) bestond. Dit polymeer gedraagt zich als een vloeibare fase waarin de verbindingen kunnen absorberen. Gezien de kleine hoeveelheid fase die bij SPME gebruikt wordt, heeft men vrijwel steeds te maken met een evenwichtsproces waarbij verbindingen zich over de fiber en het monster gaan verdelen. In dit werk werd SPME geoptimaliseerd voor de extractie van het semi-vluchtige TPhT. Daarbij bleek dat headspace SPME bij verhoogde temperatuur de hoogste gevoeligheid vertoonde. Uit het extractieprofiel (opbrengst i.f.v. extractietijd) bleek dat evenwicht niet binnen praktisch haalbare grenzen ligt, maar mits constant houden van de extractietijd is kwantitatieve analyse ook mogelijk vóór het optreden van evenwicht. Vervolgens werden 'figures of merit' zoals detectielimiet, herhaalbaarheid, lineair dynamisch bereik en recovery nagegaan. Op vraag van enkele onderzoekers uit de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de Universiteit Gent werd TBut bepaald in waterstalen die afkomstig waren van een blootstellingsexperiment op garnalen.

Bij de bepaling van organotinverbindingen in vaste monsters speelt de monstervoorbereiding (**Hoofdstuk 7**) een essentiële rol. Voor biologische monsters vormt de vrijstelling van de organotinverbindingen uit de matrix (digestiestap) een van de meest kritische onderdelen van de analyse. Het is van groot belang dat de digestie voldoende krachtig is om de verbindingen volledig vrij te stellen, maar niet

krachtig genoeg is om de chemische identiteit van de verbindingen in gevaar te brengen. Na de digestie volgt een derivatisatiereactie waarbij de verbindingen omgezet worden in een vluchtigere en meer apolaire vorm, waardoor ze relatief eenvoudig met GC te scheiden zijn. In dit werk werd de derivatisatie steeds uitgevoerd door ethylering met NaBEt_4 . Bij deze reactie blijkt de pH een zeer belangrijke rol te spelen. Gekoppeld aan dit gegeven werden twijfels geformuleerd in verband met de robuustheid van deze derivatisatiemethode. Het NaBEt_4 werd in dit werk ook succesvol toegepast als digestie- én derivatisatiereagens. De basische eigenschappen van deze stof zorgen er waarschijnlijk voor dat onder de gebruikte extractieomstandigheden (hoge temperatuur) geen apart digestiereagens (zoals een KOH/EtOH- mengsel) nodig is. Deze nieuwe methode werd gebruikt bij de bepaling van enkele organotinverbindingen in verschillende vismonsters. Een van de belangrijkste factoren bij de monstervoorbereiding blijkt de monstermassa te zijn. In dit werk werden enkele hypothesen geformuleerd die de trends van een experiment met verschillende monstermassa kunnen verklaren.

Naast het gebruik van SPME werden in dit werk ook twee nieuwe, nauw met SPME verwante technieken gebruikt. In **Hoofdstuk 8** komen stir bar sorptive extraction (SBSE) en headspace sorptive extraction (HSSE) aan bod. Net als bij SPME maken deze extractietechnieken gebruik van het polymeer PDMS als extraherende fase. In vergelijking met SPME wordt een veel grotere hoeveelheid fase gebruikt waardoor de gevoeligheid in vele gevallen duidelijk toeneemt. Bij SBSE bevindt de PDMS-fase zich rond een roervlo die in de waterige monsteroplossing wordt gebracht, bij HSSE rond een glazen staafje dat zich in de gasfase bevindt. In dit werk werden de ‘figures of merit’ voor organotinbepaling met SBSE-GC-ICP-MS nagegaan waarbij ondermeer een detectielimiet beneden het pg/L-niveau voor TPhT in water werd gevonden. De juistheid van de methode werd gecontroleerd door analyse van BCR CRM 477. Als toepassing werden oppervlaktewater en verse mosselen geanalyseerd op hun TPhT-gehalte. HSSE werd toegepast voor de screening van verschillende gasmonsters op de aanwezigheid van organometaalverbindingen. Bij de bemonstering van gistingsgassen, die afkomstig waren van het slibverwerkingsproces van een waterzuiveringsinstallatie, bleek een groot aantal organometaalverbindingen detecteerbaar. Voor de organotinverbindingen werd een identificatiemethode opgesteld die een verband tussen de retentietijd en het aantal

koolstofatomen uitdrukt. Op basis van deze curve konden voorstellen gedaan worden in verband met de identiteit van de waargenomen verbindingen. De analyse van de gistingsgassen ging her en der gepaard met signaalverbreding die waarschijnlijk aan matrixeffecten te wijten is.

Summary

There is little doubt that organotin compounds (**Chapter 1**) are among the most important organometallics. Most of the organotin compounds consist of a central tin atom that is surrounded by one to four organic groups. The properties of the compounds are determined by the nature and number of the organic groups. The large differences among the various compounds are reflected in a wide scope of applications. Mono- and dibutyltins are often used as stabilizers or catalysts for the production of polymers while triorganotin compounds are mainly used as biocides. Especially tributyltin (TBT), used in anti-fouling paints on ships, and to a lesser degree triphenyltin (TPhT), often applied as a fungicide, are among the most notorious members of the family. Chronic toxicity has been observed at ppt-level for certain marine species (snails, mussels,...). One of the most remarkable effects is the development of male genitals in female dog whelks that are living in water with 1 ng/L of TBT. The awareness that certain organotin compounds can have a devastating effect on the ecosystem has raised a lot of interest in many different fields. Currently, the issue is no longer reserved to the International Marine Organisation or the European Commission alone, but also reached the common man.

It goes without saying that tackling this problem is impossible without the appropriate means to determine these compounds in the environment. Because of the large differences in toxicity between inorganic tin and organotin compounds on the one hand, and the differences among the organotin compounds on the other, it is very important to have techniques that allow speciation (speciation = determination of the different chemical forms of an element in a sample) at one's disposal. Speciation of organometallics is often done with hyphenated techniques. Hereby the compounds are separated based on their structure (mainly determined by the organic groups). Detection is often carried out by registration of the signal of the metal atom as a function of time. This results in a chromatogram that only shows peaks for organometallic compounds with the same metal atom (e.g. tin). In this work, gas chromatography (GC) was used for separation of the tin compounds involved, while

inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) enabled registration of the tin signal. Unlike in previous work, where butyltins were the main compounds of interest, here most of the attention was focused onto TPhT.

Although ICP-MS (**Chapter 2**) often holds the stage in PhD reports within the atomic and mass spectrometry research group, in this work it was 'merely' used as a tin detector most of the time. Two ICP-MS instruments were applied during the course of this work: a Perkin Elmer SCIEX Elan 5000 and a Hewlett Packard HP4500. The latter was brought into use around the start of this research. As this is one of the first studies in our group during which the HP4500 was used quite frequently, extra attention is devoted to this instrument.

Regarding gas chromatography (**Chapter 3**), mainly results from previous work were applied. Only for the separation of TPhT and the associated internal standard tricyclohexyltin (TCT) a new temperature program was developed. The separation of the two compounds could be easily accomplished by introducing a temperature plateau at 220°C. Apart from this, a test was carried out with a different type of column (DB-5). Unfortunately the higher affinity of the aromatic TPhT did not improve the separation. On the contrary, TPhT, eluting first on the standard column (DB-1) was not accelerated as much as TCT, causing the two compounds to co-elute.

The transfer of the compounds rarely causes problems as most GC's use a built-in detector. However, when coupled to an ICP-MS, the compounds need to be transported outside of the (heated) GC into the ICP. To avoid condensation (and the accompanying peak broadening) a heated transfer line (**Chapter 4**) is applied. In the early stages, a transfer line built by Van Tittelboom en De Smaele was used. This transfer line guaranteed a heated path up to the middle of the torch, thereby avoiding peak broadening, even in the long run. Another important aspect was the presence of a tube that pre-heated the ICP-carrier gas (Ar) before it came into contact with the transfer capillary. Together with Van Tittelboom several new, improved transfer lines were constructed during the course of this study. Some of the new developments consisted of incorporation of the pre-heating tube within the transfer line, combination of the two electrical circuits and use of a stabilized current supply. All of this resulted in a transfer line temperature which could be stabilized up to 0.1°C. Substantial

attention was paid to the background signal, that is observed when the transfer line is heated, and to the spikes which occur during warming up or cooling down. The polyimide tape, used to isolate the part inside the torch, was considered to be the prime suspect for this matter, as research showed that this tape contained up to 10% tin oxide.

Even though ICP-MS is generally considered to be a multi-element technique, instruments that use a quadrupole mass spectrometer can only measure one element (more correct 'mass to charge ratio') at a time. For constant signals, as those obtained with pneumatic nebulization, this hardly poses an obstacle. But in case one wants to record several transient signals simultaneously, it is vital to use the measuring time as efficiently as possible. For this, one also has to take into account the settling time, required to adjust the mass window of the quadrupole instrument and for subsequent stabilization. During this 'lost' time -in the order of milliseconds- no signal is recorded. As the mass window is changed more frequently (= when shorter dwell times are used) the relative share of this lost time will increase and the performance of the instrument will decrease. **Chapter 5** tackles this issue using a theoretical approach. Among several things, there is shown that a sampling interval of σ (=four data points per peak) is sufficient to obtain good results for a Gaussian signal. At the end of the chapter, quadrupole and time-of-flight (TOF) instruments are compared resulting in the assumption that for the most part of real-life GC-ICP-MS applications quadrupole instruments are more suitable than TOF instruments.

Apart from separation and detection, extraction also plays a very important role in the analysis. At first, this work continued to use solid phase microextraction (SPME) (**Chapter 6**) for the extraction of organotin compounds. SPME uses a coated fiber that is incorporated into some sort of syringe. For all applications, a coating of pure polydimethylsiloxane (PDMS) was used. This polymer can absorb compounds whereby it behaves as a liquid phase. As SPME only uses a small amount of phase, the extraction is often an equilibrium process in which compounds partition themselves between sample and fiber. In this work, SPME was optimized for the extraction of the semi-volatile compound TPhT. It turned out that headspace SPME at elevated temperature gave the highest yield. A look at the extraction profile (signal

vs. extraction time) showed that equilibrium was not reached within an acceptable period. This does not really form an obstacle as quantitative analysis is possible before equilibrium as long as the extraction time is fixed. Next, the figures of merit such as limit of detection, repeatability, dynamic range and recovery were determined. Finally, on demand of researchers of the Faculty of Agricultural Sciences of the Ghent University, TBuT was determined in some water samples that were being used in an exposure experiment on shrimps.

Sample preparation (**Chapter 7**) is vital for the determination of organotin compounds in solid samples. For biological samples, digestion of the sample is one of the most critical parts of the analysis. It is essential that digestion is sufficiently powerful to release the compounds from their matrix, but not so powerful as to jeopardize their chemical identity. The digestion is followed by a derivatization, allowing conversion of the compounds into a more volatile and more apolar form that simplifies separation with GC. In this work, ethylation with NaBEt₄ was always chosen as the derivatization method. The pH turned out to be a very important parameter for this reaction. In association with this observation, some doubt was thrown upon the robustness of this method. NaBEt₄ was also successfully applied as a combined 'digestion & derivatization' reagent. Probably, due to the alkaline properties of this compound, a separate digestion reagent (such as a KOH/EtOH mixture) is apparently not required under the applied extraction circumstances (elevated temperature). This new method was used for the determination of some organotin compounds in various fish samples. The sample mass turned out to be one of the key factors in the sample preparation process. An effort was made to explain the trends that were observed in an experiment with increasing sample mass.

Apart from SPME, two new techniques, closely related to SPME, have been used. **Chapter 8** deals with stir bar sorptive extraction (SBSE) and headspace sorptive extraction (HSSE). Like SPME, both techniques use PDMS for extraction, but the main difference is the larger mass of this polymer that is used, which often results in a higher sensitivity. With SBSE, the PDMS phase is fixed around a stir bar that is immersed in an aqueous solution, and with HSSE around a glass stick that is positioned in the gaseous phase. The figures of merit of SBSE-GC-ICP-MS were determined. For TPhT in water, a limit of detection below the pg/L-level was found.

BCR CRM 477 was used to validate the method for TPhT. The method was used to analyse surface water and fresh mussel samples. Various gaseous samples were screened by means of HSSE. A large numbers of organometallic compounds could be detected in fermentation gases, originating from the sludge processing unit of a water treatment plant. By studying the correlation between the number of carbon atoms in a molecule and the corresponding retention time, a method capable of a tentative identification of separated compounds was developed. The chromatograms for the fermentation gases showed some peak broadening which could most likely be attributed to matrix effects.